

明 細 書

ケモカイン受容体の強結合部位に結合するアンタゴニストおよびアゴニスト

5 技術分野

- 本発明は、（１）CCR5の強結合部位に結合するアンタゴニストおよびアゴニスト、（２）それらを含むアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患の予防および／または治療剤、（３）CCR5の強結合部位に結合する化合物をスクリーニングする方法、（４）そのスクリーニング方法によって選択されたアンタゴニストおよびアゴニストを含むアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患の予防および／または治療剤、（５）ケモカイン受容体の強結合部位に結合するアゴニストおよびアンタゴニスト、（６）それらを含むアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患の予防および／または治療剤、（７）ケモカイン受容体の強結合部位に結合する化合物をスクリーニングする方法、および（８）そのスクリーニング方法によって選択されたアンタゴニストおよびアゴニストを含むアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患の予防および／または治療剤に関する。

20 背景技術

- ケモカインは、内因性の白血球走化性、活性化作用を有し、ヘパリン結合性の強い塩基性蛋白質として知られている。現在では、ケモカインは、炎症、免疫反応時の特異的白血球の浸潤を制御するのみならず、発生、生理的条件下でのリンパ球のホーミング、血球前駆細胞、体細胞の移動にも関与している。

血球細胞は種々のサイトカインによって、その分化、増殖、細胞死が制御

されている。生体内において炎症は局所的にみられ、リンパ球の分化、成熟等はある特定の部位で行なわれている。すなわち、必要とされる種々の細胞が、ある特定の部位に移動し、集積して、一連の炎症、免疫反応が起こる。従って、細胞の分化、増殖、死に加えて、細胞の移動も免疫系にとって必要不可欠な現象である。

生体内での血球細胞の移動は、まず、発生過程において、AGM領域に始まる造血が胎児肝を経て、骨髄での永久造血へと移行することから始まる。更に、胎児肝、骨髄から胸腺へと、T細胞、胸腺樹状細胞の前駆細胞が移動し、胸腺環境下で細胞分化する。クローン選択を受けたT細胞は、二次リンパ組織へ移動し、末梢における免疫反応に関与する。抗原を捕らえて、活性化、分化した皮膚のランゲルハンス細胞は、局所リンパ節のT細胞領域に移動し、樹状突起細胞としてナイーブT細胞を活性化する。メモリーT細胞はリンパ管、血管を経て、再びリンパ節にホーミングする。また、B細胞、腸管上皮内T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、NKT細胞、樹状細胞は、骨髄より胸腺を経ずに移動、分化し、免疫反応に関与する。

ケモカインは、このような種々の細胞の移動に深く関与している。例えば、MIP3 β 、SLCとその受容体であるCCR7は、抗原を捕らえた成熟樹状細胞が、ナイーブT細胞およびメモリーT細胞と効率良く出会うために、これらの細胞の局所リンパ組織への移動、ホーミングにおいて重要な働きをしている。SLCの発現に欠損があるp1tマウスの二次リンパ節には、抗原特異的な免疫反応を司るために必要なT細胞、並びに樹状細胞がほとんど観察されない (J. Exp. Med., 189(3), 451 (1999))。

MDC、TARCとその受容体であるCCR4は、Th2細胞の関わる免疫、炎症反応において、Th2細胞の局所への移動に重要な働きをしている。ラット劇症肝炎モデル (Pacnes+LPS) において、抗TARC抗体は、血中ALT量の上昇、および肝臓中TNF α 、FasLの発現量の上昇を抑制し、

更にラット致死率を改善した (J. Clin. Invest., 102, 1933 (1998))。また、マウスOVA誘発気道過敏性モデルにおいて、抗MDC抗体は肺間質に集積する好酸球数を減らし、気道過敏性を抑制した (J. Immunology, 163, 403 (1999))。

MCP-1とその受容体であるCCR2は、マクロファージの炎症部位への浸潤に関与している。抗MCP-1抗体は、ラット抗Thy1.1抗体腎炎モデルにおいて、糸球体への単球、マクロファージの浸潤に対する抑制効果を示した (Kidney Int., 51, 770 (1997))。

このように、ケモカイン受容体は、種々の特異的な細胞において、ある特定した時期に発現し、そのエフェクター細胞がケモカインの産生される個所に集積するというメカニズムを通じて、炎症、免疫反応の制御に大きく関与している。

ヒト免疫不全ウイルス（以下、HIVと略する。）感染によって引き起こされる後天性免疫不全症候群（エイズ（AIDS）と呼ばれている。）は、近年最もその治療法を切望されている疾患の一つである。主要な標的細胞であるCD4陽性細胞にHIVの感染が一度成立すると、HIVは患者の体内で増殖をくり返し、やがては免疫機能を司るT細胞を壊滅的に破壊する。この過程で徐々に免疫機能が低下し、発熱、下痢、リンパ節の腫脹等の様々な免疫不全状態を示すようになり、カリニ肺炎等の種々の日和見感染症を併発し易くなる。このような状態がエイズの発症であり、カボジ肉腫等の悪性腫瘍を誘発し、重篤化することはよく知られている。

現在エイズに対する各種の予防、治療方法としては、例えば、（１）逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤の投与によるHIVの増殖抑制、（２）免疫賦活作用のある薬物の投与による日和見感染症の予防、緩和等が試みられている。

HIVは、免疫系の中樞を司るヘルパーT細胞に主に感染する。その際、T細胞の膜上に発現している膜蛋白CD4を利用することは、1985年より知

られている (Cell, 52, 631 (1985))。CD 4 分子は 4 3 3 個のアミノ酸残基からなり、成熟ヘルパー T 細胞以外にマクロファージ、一部の B 細胞、血管内皮細胞、皮膚組織のランゲルハンス細胞、リンパ組織にある樹状細胞、中枢神経系のグリア細胞等で発現が見られる。しかし、CD 4 分子のみでは HIV の感染が成立しないことが明らかになるにつれて、HIV が細胞に感染する際にかかわる CD 4 分子以外の因子の存在と関与が示唆されるようになった。

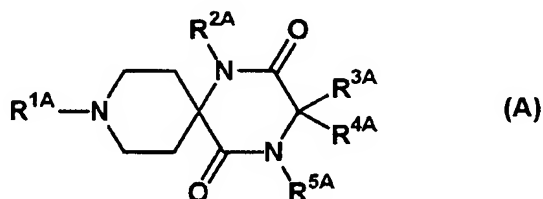
1996 年になって、CD 4 分子以外の HIV 感染にかかわる因子としてフージン (Fusin) という細胞膜蛋白が同定された (Science, 272, 872 (1996))。このフージン (Fusin) 分子は、ストローマ細胞由来因子-1 (Stromal Derived Factor-1: SDF-1 と略する。) の受容体 (すなわち、CXCR 4 である) であることが証明された。更に、インビトロで SDF-1 が、T 細胞指向性 (X 4) HIV の感染を特異的に抑制することも証明された (Nature, 382, 829 (1996)、Nature, 382, 833 (1996))。すなわち、SDF-1 が HIV より先に CXCR 4 に結合することによって、HIV が細胞に感染するための足掛かりを奪い、HIV の感染が阻害されたと報告された。

また同じ頃、別のケモカイン受容体であり、RANTES、MIP-1 α 、MIP-1 β の受容体である CCR 5 も、マクロファージ指向性 (R 5) HIV が感染する際に利用されることが発見された (Science, 272, 1955 (1996))。従って、HIV と CXCR 4 や CCR 5 を奪い合うことのできるもの、あるいは HIV ウイルスに結合し、該ウイルスが CXCR 4 や CCR 5 に結合できない状態にさせるものは、HIV 感染阻害剤となり得るはずである。また当初、HIV 感染阻害剤として発見された低分子化合物が、実は CXCR 4 のアンタゴニストであることが示された例もある (Nature Medicine, 4, 72 (1998))。

以上から、ケモカイン/ケモカイン受容体は、炎症、免疫疾患または HIV

- V感染に深く関与おり、疾患としては、例えば、各種炎症性疾患、喘息、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー疾患（アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、アレルギー性好酸球性胃腸症等）、腎炎、腎症、肝炎、関節炎、慢性関節リウマチ、乾癬、鼻炎、結膜炎、虚血再灌流傷害、多発性硬化症、
- 5 潰瘍性大腸炎、急性呼吸窮迫症候群、細菌感染に伴うショック、糖尿病、自己免疫疾患、移植臓器拒絶反応、癌転移、後天性免疫不全症候群等が挙げられる。

ケモカイン／ケモカイン受容体の作用を制御する化合物として、一般式
(A)



10

[式中、R^{1A}は、

- (1)水素原子、
- (2)C 1～1 8アルキル基、
- (3)C 2～1 8アルケニル基、
- 15 (4)C 2～1 8アルキニル基、
- (5)－COR^{6A}、
- (6)－CONR^{7A}R^{8A}、
- (7)－COOR^{9A}、
- (8)－SO₂R^{10A}、
- 20 (9)－COCOOR^{11A}、
- (10)－CONR^{12A}COR^{13A}、
- (11)Cyc 1^A、または
- (12) (a)ハロゲン原子、(b)－CONR^{7A}R^{8A}、(c)－COOR^{9A}、(d)－OR^{14A}、

- (e)–SR^{15A}、(f)–NR^{16A}R^{17A}、(g)–NR^{18A}COR^{19A}、(h)–SO₂NR^{20A}R^{21A}、(i)–OCOR^{22A}、(j)–NR^{23A}SO₂R^{24A}、(k)–NR^{25A}COOR^{26A}、(l)–NR^{27A}CONR^{28A}R^{29A}、(m)Cyc1^A、(n)ケト基、および(o)–N(SO₂R^{24A})₂から任意に選ばれる1～5個の置換基によって置換されたC1～18アルキル基、C2～18アルケニル基、またはC2～18アルキニル基を表わし、
- (基中、R^{6A}～R^{9A}、R^{11A}～R^{21A}、R^{23A}、R^{25A}およびR^{27A}～R^{29A}はそれぞれ独立して、
- (1)水素原子、
- (2)C1～8アルキル基、
- (3)C2～8アルケニル基、
- (4)C2～8アルキニル基、
- (5)Cyc1、または
- (6)(a)Cyc1、(b)ハロゲン原子、(c)–OR^{30A}、(d)–SR^{31A}、(e)–NR^{32A}R^{33A}、(f)–COOR^{34A}、(g)–CONR^{35A}R^{36A}、(h)–NR^{37A}COR^{38A}、(i)–NR^{39A}SO₂R^{40A}、および(j)–N(SO₂R^{40A})₂から任意に選ばれる1～5個の置換基によって置換されたC1～8アルキル基、C2～8アルケニル基、またはC2～8アルキニル基を表わすか、
- R^{7A}とR^{8A}、R^{20A}とR^{21A}、R^{28A}とR^{29A}は一緒になって、(1)C2～6アルキレン基、(2)–(C2～6アルキレン基)–O–(C2～6アルキレン基)–、(3)–(C2～6アルキレン基)–S–(C2～6アルキレン基)–、または(4)–(C2～6アルキレン基)–NR^{195A}–(C2～6アルキレン基)–を表わし(基中、R^{195A}は、水素原子、C1～8アルキル基、フェニル基、またはフェニル基によって置換されたC1～8アルキル基を表わす。)、
- R^{10A}、R^{22A}、R^{24A}およびR^{26A}はそれぞれ独立して、
- (1)C1～8アルキル基、

(2) C₂～8アルケニル基、

(3) C₂～8アルキニル基、

(4) Cyc^{1A}、または

(5) (a) Cyc¹、(b)ハロゲン原子、(c)－OR^{30A}、(d)－SR^{31A}、(e)－NR^{32A}R^{33A}、
 5 (f)－COOR^{34A}、(g)－CONR^{35A}R^{36A}、(h)－NR^{37A}COR^{38A}、
 (i)－NR^{39A}SO₂R^{40A}、および(j)－N(SO₂R^{40A})₂から任意に選
 ばれる1～5個の置換基によって置換されたC₁～8アルキル基、C₂～8
 アルケニル基、またはC₂～8アルキニル基を表わし、

(基中、R^{30A}～R^{37A}およびR^{39A}はそれぞれ独立して、水素原子、C₁～
 10 8アルキル基、Cyc^{1A}、またはCyc^{1A}によって置換されたC₁～8ア
 ルキル基を表わすか、

R^{35A}とR^{36A}は一緒になって、(1)C₂～6アルキレン基、(2)－(C₂～6ア
 ルキレン基)－O－(C₂～6アルキレン基)－、(3)－(C₂～6アルキレ
 ン基)－S－(C₂～6アルキレン基)－、または(4)－(C₂～6アルキレ
 15 ン基)－NR^{196A}－(C₂～6アルキレン基)－を表わし(基中、R^{196A}は、
 水素原子、C₁～8アルキル基、フェニル基、またはフェニル基によって置
 換されたC₁～8アルキル基を表わす。)、

R^{38A}およびR^{40A}はそれぞれ独立して、C₁～8アルキル基、Cyc^{1A}、
 またはCyc^{1A}によって置換されたC₁～8アルキル基を表わす。)

20 Cyc^{1A}は、C₃～15の単環、二環、または三環式(縮合またはスピロ)
 炭素環、または1～4個の窒素原子、1～3個の酸素原子および/または1
 ～3個の硫黄原子を含む3～15員の単環、二環、または三環式(縮合また
 はスピロ)複素環を表わす。

ただし、Cyc^{1A}は1～5個のR^{51A}によって置換されていてもよく、

25 R^{51A}は、

(1)C₁～8アルキル基、

- (2) C₂～8 アルケニル基、
- (3) C₂～8 アルキニル基、
- (4) ハロゲン原子、
- (5) ニトロ基、
- 5 (6) トリフルオロメチル基、
- (7) トリフルオロメトキシ基、
- (8) ニトリル基、
- (9) ケト基、
- (10) C_{y c 2}^A、
- 10 (11) —OR^{52A}、
- (12) —SR^{53A}、
- (13) —NR^{54A}R^{55A}、
- (14) —COOR^{56A}、
- (15) —CONR^{57A}R^{58A}、
- 15 (16) —NR^{59A}COR^{60A}、
- (17) —SO₂NR^{61A}R^{62A}、
- (18) —OCOR^{63A}、
- (19) —NR^{64A}SO₂R^{65A}、
- (20) —NR^{66A}COOR^{67A}、
- 20 (21) —NR^{68A}CONR^{69A}R^{70A}、
- (22) —B (OR^{71A})₂、
- (23) —SO₂R^{72A}、
- (24) —N (SO₂R^{72A})₂、または
- (25) (a) ハロゲン原子、(b) C_{y c 2}^A、(c) —OR^{52A}、(d) —SR^{53A}、(e) —NR^{54A}R^{55A}、(f) —COOR^{56A}、(g) —CONR^{57A}R^{58A}、(h) —NR^{59A}COR^{60A}、(i) —SO₂NR^{61A}R^{62A}、(j) —OCOR^{63A}、(k) —NR^{64A}SO₂R^{65A}、

(l)-NR^{66A}COOR^{67A}、(m)-NR^{68A}CONR^{69A}R^{70A}、(n)-B (OR^{71A})₂、(o)-SO₂R^{72A}、および(p)-N (SO₂R^{72A})₂から任意に選ばれる1～5個の置換基によって置換されたC1～8アルキル基、C2～8アルケニル基、C2～8アルキニル基を表わす。)

- 5 (基中、R^{52A}～R^{62A}、R^{64A}、R^{66A}およびR^{68A}～R^{71A}はそれぞれ独立して、(1)水素原子、(2)C1～8アルキル基、(3)C2～8アルケニル基、(4)C2～8アルキニル基、(5)Cyc2^A、または(6)Cyc2^A、-OR^{73A}、-COOR^{74A}、-NR^{75A}R^{76A}によって置換されたC1～8アルキル基、C2～8アルケニル基、C2～8アルキニル基を表わすか、
- 10 R^{57A}とR^{58A}、R^{61A}とR^{62A}、R^{69A}とR^{70A}は一緒になって、(1)C2～6アルキレン基、(2)-(C2～6アルキレン基)-O-(C2～6アルキレン基)-、(3)-(C2～6アルキレン基)-S-(C2～6アルキレン基)-、または(4)-(C2～6アルキレン基)-NR^{197A}-(C2～6アルキレン基)-を表わし(基中、R^{197A}は、水素原子、C1～8アルキル基、フェニル基、
- 15 またはフェニル基によって置換されたC1～8アルキル基を表わす。)、R^{63A}、R^{65A}、R^{67A}およびR^{72A}はそれぞれ独立して、(1)C1～8アルキル基、(2)C2～8アルケニル基、(3)C2～8アルキニル基、(4)Cyc2^A、または(5)Cyc2^A、-OR^{73A}、-COOR^{74A}、-NR^{75A}R^{76A}によって置換されたC1～8アルキル基、C2～8アルケニル基、C2～8アルキニル基を表わし、
- 20 (基中、R^{73A}～R^{76A}はそれぞれ独立して、水素原子、C1～8アルキル基、Cyc2^A、またはCyc2^Aによって置換されたC1～8アルキル基を表わす。)
- Cyc2^AはCyc1^Aと同じ意味を表わす。
- 25 ただし、Cyc2^Aは1～5個のR^{77A}によって置換されていてもよく、R^{77A}は、

- (1) C₁～8アルキル基、
- (2) ハロゲン原子、
- (3) ニトロ基、
- (4) トリフルオロメチル基、
- 5 (5) トリフルオロメトキシ基、
- (6) ニトリル基、
- (7) -OR^{78A}、
- (8) -NR^{79A}R^{80A}、
- (9) -COOR^{81A}、
- 10 (10) -SR^{82A}、
- (11) -CONR^{83A}R^{84A}、
- (12) C₂～8アルケニル基、
- (13) C₂～8アルキニル基、
- (14) ケト基、
- 15 (15) Cyc₆^A、
- (16) -NR^{161A}COR^{162A}、
- (17) -SO₂NR^{163A}R^{164A}、
- (18) -OCOR^{165A}、
- (19) -NR^{166A}SO₂R^{167A}、
- 20 (20) -NR^{168A}COOR^{169A}、
- (21) -NR^{170A}CONR^{171A}R^{172A}、
- (22) -SO₂R^{173A}、
- (23) -N(SO₂R^{167A})₂、
- (24) (a) ハロゲン原子、(b) -OR^{78A}、(c) -NR^{79A}R^{80A}、(d) -COOR^{81A}、
- 25 (e) -SR^{82A}、(f) -CONR^{83A}R^{84A}、(g) ケト基、(h) Cyc₆^A、(i) -NR^{161A}COR^{162A}、(j) -SO₂NR^{163A}R^{164A}、(k) -OCOR^{165A}、(l) -NR

$^{166A}SO_2R^{167A}$ 、 $(m)-NR^{168A}COOR^{169A}$ 、 $(n)-NR^{170A}CONR^{171A}R^{172A}$ 、 $(o)-SO_2R^{173A}$ 、および $(p)-N(SO_2R^{167A})_2$ から任意に選ばれる1～5個の置換基によって置換されたC1～8アルキル基、C2～8アルケニル基、C2～8アルキニル基を表わす。)

- 5 (基中、 $R^{78A} \sim R^{84A}$ 、 $R^{161A} \sim R^{164A}$ 、 R^{166A} 、 R^{168A} および $R^{170A} \sim R^{172A}$ はそれぞれ独立して、(a)水素原子、(b)C1～8アルキル基、(c)C2～8アルケニル基、(d)C2～8アルキニル基、(e) $Cyc6^A$ 、(f) $Cyc6^A$ 、 $-OR^{174A}$ 、 $-COOR^{175A}$ 、 $-NR^{176A}R^{177A}$ 、 $-CONR^{178A}R^{179A}$ によって置換されたC1～8アルキル基、C2～8アルケニル基、C2～8アルキニル基を表わすか、

- 10 R^{83A} と R^{84A} 、 R^{163A} と R^{164A} 、 R^{171A} と R^{172A} は一緒になって、(1)C2～6アルキレン基、(2) $-(C2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-O-(C2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-$ 、(3) $-(C2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-S-(C2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-$ 、または(4) $-(C2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-NR^{198A}-(C2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-$ を表わし(基中、 R^{198A} は、水素原子、C1～8アルキル基、フェニル基、またはフェニル基によって置換されたC1～8アルキル基を表わす。)、

- 20 R^{165A} 、 R^{167A} 、 R^{169A} および R^{173A} はそれぞれ独立して、(a)C1～8アルキル基、(b)C2～8アルケニル基、(c)C2～8アルキニル基、(d) $Cyc6^A$ 、または(e) $Cyc6^A$ 、 $-OR^{174A}$ 、 $-COOR^{175A}$ 、 $-NR^{176A}R^{177A}$ 、 $-CONR^{178A}R^{179A}$ によって置換されたC1～8アルキル基、C2～8アルケニル基、C2～8アルキニル基を表わす。)

- (基中、 $R^{174A} \sim R^{177A}$ はそれぞれ独立して、(1)水素原子、(2)C1～8アルキル基、(3) $Cyc6^A$ 、または(4) $Cyc6^A$ によって置換されたC1～8アルキル基を表わすか、

25 R^{178A} と R^{179A} は一緒になって、(1)C2～6アルキレン基、(2) $-(C2 \sim$

6アルキレン基) -O- (C 2～6アルキレン基) -, (3)- (C 2～6アル
 キレン基) -S- (C 2～6アルキレン基) -, または(4)- (C 2～6アル
 キレン基) -NR^{199A}- (C 2～6アルキレン基) -を表わし (基中、R¹⁹
 9Aは、水素原子、C 1～8アルキル基、フェニル基、またはフェニル基によ
 5 って置換されたC 1～8アルキル基を表わす。)、

Cyc 6^Aは、C 3～8の単環式炭素環または1～4個の窒素原子、1～2個
 の酸素原子および/または1～2個の硫黄原子を含む3～8員の単環式複素
 環を表わす。

ただし、Cyc 6^Aは1～5個のR^{180A}によって置換されていてもよく、

10 R^{180A}は、

(1)C 1～8アルキル基、

(2)ハロゲン原子、

(3)ニトロ基、

(4)トリフルオロメチル基、

15 (5)トリフルオロメトキシ基、

(6)ニトリル基、

(7)-OR^{181A}、

(8)-NR^{182A}R^{183A}、

(9)-COOR^{184A}、

20 (10)-SR^{185A}、または

(11)-CONR^{186A}R^{187A}を表わし

(基中、R^{181A}～R^{187A}はそれぞれ独立して、(1)水素原子、(2)C 1～8ア
 ルキル基、(3)フェニル基、または(4)フェニル基によって置換されたC 1～8
 アルキル基を表わすか、

25 R^{182A}とR^{183A}、R^{186A}とR^{187A}は一緒になって、(1)C 2～6アルキレン
 基、(2)- (C 2～6アルキレン基) -O- (C 2～6アルキレン基) -, (3)

— (C 2～6アルキレン基) — S — (C 2～6アルキレン基) —、または(4)
 — (C 2～6アルキレン基) — NR^{200A} — (C 2～6アルキレン基) —を表
 わす(基中、R^{200A}は、水素原子、C 1～8アルキル基、フェニル基、フェ
 ニル基によって置換されたC 1～8アルキル基を表わす。))、

5 R^{2A}は、

- (1)水素原子、
- (2)C 1～8アルキル基、
- (3)C 2～8アルケニル基、
- (4)C 2～8アルキニル基、

10 (5)—OR^{90A}、

(6)Cyc 3^A、または

- (7) (a)ハロゲン原子、(b)—OR^{90A}、(c)—SR^{91A}、(d)—NR^{92A}R^{93A}、(e)
 —COOR^{94A}、(f)—CONR^{95A}R^{96A}、(g)—NR^{97A}COR^{98A}、(h)—S
 O₂NR^{99A}R^{100A}、(i)—OCOR^{101A}、(j)—NR^{102A}SO₂R^{103A}、(k)—
 15 NR^{104A}COOR^{105A}、(l)—NR^{106A}CONR^{107A}R^{108A}、(m)Cyc 3^A、
 (n)ケト基、および(o)—N(SO₂R^{103A})₂から任意に選ばれる1～5個の置
 換基によって置換されたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基または
 C 2～8アルキニル基を表わし、

- (基中、R^{90A}～R^{100A}、R^{102A}、R^{104A}およびR^{106A}～R^{108A}はそれぞ
 20 れ独立して、(1)水素原子、(2)C 1～8アルキル基、(3)C 2～8アルケニル基、
 (4)C 2～8アルキニル基、(5)Cyc 3^A、または(6)Cyc 3^Aによって置換さ
 れたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、C 2～8アルキニル基を
 表わすか、

- R^{95A}とR^{96A}、R^{99A}とR^{100A}、R^{107A}とR^{108A}は一緒になって、(1)C 2
 25 ～6アルキレン基、(2)—(C 2～6アルキレン基)—O—(C 2～6アルキ
 レン基)—、(3)—(C 2～6アルキレン基)—S—(C 2～6アルキレン基)

一、または(4)－(C 2～6アルキレン基)－NR^{201A}－(C 2～6アルキレン基)－を表わし(基中、R^{201A}は、水素原子、C 1～8アルキル基、フェニル基、またはフェニル基によって置換されたC 1～8アルキル基を表わす。)、

- 5 R^{101A}、R^{103A}およびR^{105A}はそれぞれ独立して、(1)C 1～8アルキル基、(2)C 2～8アルケニル基、(3)C 2～8アルキニル基、または(4)C y c 3^AまたはC y c 3^Aによって置換されたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、C 2～8アルキニル基を表わし、
C y c 3^AはC y c 1^Aと同じ意味を表わす。
- 10 ただし、C y c 3^Aは1～5個のR^{109A}によって置換されていてもよく、
R^{109A}はR^{51A}と同じ意味を表わす。)
R^{3A}およびR^{4A}はそれぞれ独立して、
(1)水素原子、
(2)C 1～8アルキル基、
15 (3)C 2～8アルケニル基、
(4)C 2～8アルキニル基、
(5)－COOR^{120A}、
(6)－CONR^{121A}R^{122A}、
(7)C y c 4^A、または
- 20 (8) (a)ハロゲン原子、(b)ニトリル基、(c)C y c 4^A、(d)－COOR^{120A}、(e)－CONR^{121A}R^{122A}、(f)－OR^{123A}、(g)－SR^{124A}、(h)－NR^{125A}R^{126A}、(i)－NR^{127A}COR^{128A}、(j)－SO₂NR^{129A}R^{130A}、(k)－OCOR^{131A}、(l)－NR^{132A}SO₂R^{133A}、(m)－NR^{134A}COOR^{135A}、(n)－NR^{136A}CONR^{137A}R^{138A}、(o)－S－SR^{139A}、(p)－NHC(=NH)NH
- 25 R^{140A}、(q)ケト基、(r)－NR^{145A}CONR^{146A}COR^{147A}、および(s)－N(SO₂R^{133A})₂から任意に選ばれる1～5個の置換基によって置換された

C 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、またはC 2～8アルキニル基を表わし、

(基中、 $R^{120A} \sim R^{130A}$ 、 R^{132A} 、 R^{134A} 、 $R^{136A} \sim R^{138A}$ 、 R^{145A} および R^{146A} はそれぞれ独立して、(1)水素原子、(2)C 1～8アルキル基、(3)

- 5 C 2～8アルケニル基、(4)C 2～8アルキニル基、(5) $Cyc 4^A$ 、または(6) $Cyc 4^A$ 、ハロゲン原子、 $-OR^{148A}$ 、 $-SR^{149A}$ 、 $-COOR^{150A}$ 、または $-NHCOR^{141A}$ によって置換されたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、C 2～8アルキニル基を表わすか、

R^{121A} と R^{122A} 、 R^{129A} と R^{130A} 、 R^{137A} と R^{138A} は一緒になって、(1)

- 10 C 2～6アルキレン基、(2) $-(C 2 \sim 6 \text{アルキレン基})-O-(C 2 \sim 6 \text{アルキレン基})-$ 、(3) $-(C 2 \sim 6 \text{アルキレン基})-S-(C 2 \sim 6 \text{アルキレン基})-$ 、または(4) $-(C 2 \sim 6 \text{アルキレン基})-NR^{202A}-(C 2 \sim 6 \text{アルキレン基})-$ を表わし(基中、 R^{202A} は、水素原子、C 1～8アルキル基、フェニル基、フェニル基によって置換されたC 1～8アルキル基を表わす。)、

- 15 R^{131A} 、 R^{133A} 、 R^{135A} 、 R^{139A} および R^{147A} はそれぞれ独立して、(1)C 1～8アルキル基、(2)C 2～8アルケニル基、(3)C 2～8アルキニル基、(4) $Cyc 4^A$ 、または(5) $Cyc 4^A$ 、ハロゲン原子、 $-OR^{148A}$ 、 $-SR^{149A}$ 、 $-COOR^{150A}$ 、または $-NHCOR^{141A}$ によって置換されたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、C 2～8アルキニル基を表わし、

- 20 R^{140A} は、水素原子、 $-COOR^{142A}$ 、または $-SO_2R^{143A}$ を表わし、

(基中、 $R^{141} \sim R^{143}$ はそれぞれ独立して、(1)C 1～8アルキル基、(2)C 2～8アルケニル基、(3)C 2～8アルキニル基、(4) $Cyc 4^A$ 、または(5) $Cyc 4^A$ によって置換されたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、C 2～8アルキニル基を表わし、

- 25 $R^{148A} \sim R^{150A}$ はそれぞれ独立して、(1)水素原子、(2)C 1～8アルキル基、(3)C 2～8アルケニル基、(4)C 2～8アルキニル基、(5) $Cyc 4^A$ 、または(6)

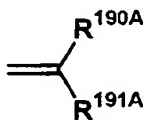
Cy c 4^Aによって置換されたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、
C 2～8アルキニル基を表わし、

Cy c 4^AはCy c 1^Aと同じ意味を表わす。

ただし、Cy c 4^Aは1～5個のR^{144A}によって置換されていてもよく、

- 5 R^{144A}はR^{51A}と同じ意味を表わす。)を表わすか

R^{3A}とR^{4A}は一緒になって、



(基中、R^{190A}およびR^{191A}はそれぞれ独立して、R^{3A}またはR^{4A}と同じ意味を表わす。)を表わし、

- 10 R^{5A}は、

(1)水素原子、

(2)C 1～8アルキル基、

(3)Cy c 5^A、または

(4)Cy c 5^Aによって置換されたC 1～8アルキル基を表わす。

- 15 (基中、Cy c 5^AはCy c 1^Aと同じ意味を表わす。

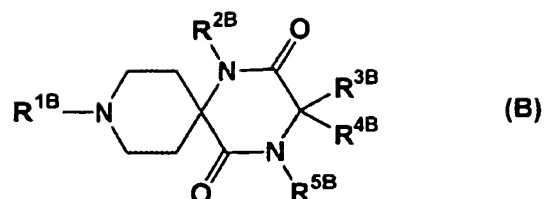
ただし、Cy c 5^Aは1～5個のR^{160A}によって置換されていてもよく、

R^{160A}はR^{51A}と同じ意味を表わす。)]

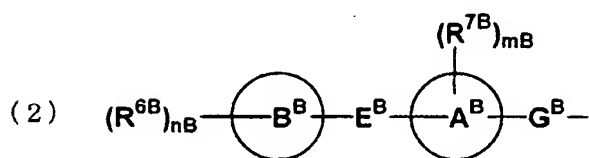
で示されるトリアザスピロ[5.5]ウンデカン誘導体、それらの四級アンモニウム塩、それらのN-オキシドまたはそれらの非毒性塩が知られている

- 20 (WO01/40227号パンフレット参照)。

また、ケモカイン/ケモカイン受容体の作用を制御する化合物として、一般式(B)



[式中、 R^{1B} は、下記式(1)または(2)で示される基：



(基中、 G^B は、単結合、C 1～4アルキレン基、C 2～4アルケニレン基または-CO-を表わし、

A^B 環は、(1)C 5～10の単環または二環式炭素環または(2)1～2個の窒素原子および／または1～2個の酸素原子を含む5～10員の単環または二環式複素環を表わし、

R^{6B} は、

- 10 (1)C 1～4アルキル基、
- (2)ハロゲン原子、
- (3)ニトリル基、
- (4)トリフルオロメチル基、
- (5)-OR^{8B}基、
- 15 (6)-SR^{9B}基、
- (7)-NR^{10B}R^{11B}基、
- (8)-COOR^{12B}基、
- (9)-CONR^{13B}R^{14B}基、
- (10)-SO₂NR^{15B}R^{16B}基、

- (11) $-NR^{17B}SO_2R^{18B}$ 基、
 (12) $-S(O)R^{19B}$ 基、
 (13) $-SO_2R^{20B}$ 基、
 (14) $-N(SO_2R^{21B})_2$ 基、
 5 (15)(a) $-OR^{8B}$ 基、(b) $-NR^{10B}R^{11B}$ 基および(c) $Cyc1^B$ から選択される 1 個の基によって置換された $C1 \sim 4$ アルキル基、または
 (16) $-NR^{27B}COR^{28B}$ 基を表わし、
 $R^{8B} \sim R^{17B}$ は、それぞれ独立して、(1)水素原子、(2) $C1 \sim 4$ アルキル基、
 (3) $Cyc1^B$ 、(4) $-OR^{22B}$ 基、または(5)(a) $-OR^{22B}$ 基、(b) $-NR^{23B}R^{24B}$
 10 B 基、(c) $-COOR^{25B}$ 基および(d) $Cyc1^B$ から任意に選ばれる 1 個の基に
 置換された $C1 \sim 4$ アルキル基を表わすか、
 R^{10B} と R^{11B} 、 R^{13B} と R^{14B} 、 R^{15B} と R^{16B} は、それぞれが結合する窒素
 原子と一緒にあって、1 ～ 2 個の窒素原子および／または 1 個の酸素原子を
 含む 5 ～ 6 員の単環複素環を表わし（ただし、該複素環は、 $C1 \sim 4$ アルキ
 15 ル基または水酸基で置換されていてもよい。）
 $R^{22B} \sim R^{25B}$ は、それぞれ独立して、(1)水素原子、(2) $C1 \sim 4$ アルキル基、
 または(3) $C1 \sim 4$ アルコキシ基が置換した $C1 \sim 4$ アルキル基を表わすか、
 R^{23B} と R^{24B} は、結合する窒素原子と一緒にあって、1 ～ 2 個の窒素原子お
 よび／または 1 個の酸素原子を含む 5 ～ 6 員の単環複素環を表わし（ただし、
 20 該複素環は、 $C1 \sim 4$ アルキル基または水酸基で置換されていてもよい。）
 $R^{18B} \sim R^{21B}$ は、それぞれ独立して、 $C1 \sim 4$ アルキル基を表わし、
 R^{27B} は、(1)水素原子、(2) $C1 \sim 4$ アルキル基、(3) $Cyc1^B$ または(4)(a) $-OR^{22B}$
 OR^{22B} 基、(b) $-NR^{23B}R^{24B}$ 基、(c) $-COOR^{25B}$ 基および(d) $Cyc1^B$
 から任意に選ばれる 1 個の基によって置換された $C1 \sim 4$ アルキル基を表わ
 25 し、
 R^{28B} は、(1) $C1 \sim 4$ アルキル基、(2) $Cyc1^B$ または(3)(a) $-OR^{22B}$ 基、(b)

- $-NR^{23B}R^{24B}$ 基、(c) $-COOR^{25B}$ 基および(d) $Cyc1^B$ から任意に選ばれる一つの基によって置換されたC1～4アルキル基を表わし、
 $Cyc1^B$ は(1)C5～6の単環炭素環または(2)1～2個の窒素原子および／または1個の酸素原子を含む5～6員の単環複素環を表わし（ただし、該炭
 5 素環または複素環は、C1～4アルコキシ基、ハロゲン原子または $-COOR^{29B}$ 基（ R^{29B} は、(1)水素原子、(2)C1～4アルキル基、(3) $Cyc1^B$ または(4)(a) $-OR^{22B}$ 基、(b) $-NR^{23B}R^{24B}$ 基、(c) $-COOR^{25B}$ 基および(d) $Cyc1^B$ から任意に選ばれる一つの基によって置換されたC1～4アルキル基を表わす。）で置換されていてもよい。））、
- 10 E^B は、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-CO-$ または $-CHOH-$ を表わし、
 B^B 環は、(1)C5～6の単環炭素環または(2)1～2個の窒素原子および／または1個の酸素原子を含む5～6員の単環複素環を表わし、
 R^{7B} は、C1～4アルキル基またはハロゲン原子を表わし、
 nB は、0または1～4の整数を表わし、
- 15 mB は、0または1～4の整数を表わす。）を表わし、
 R^{2B} は、
 (1)C1～4アルキル基、
 (2)C2～4アルキニル基、または
 (3)(a) $-OR^{30B}$ 基、(b) $-NR^{31B}R^{32B}$ 基および(c) $Cyc3^B$ から選択される
- 20 1個の基によって置換されたC1～4アルキル基（基中、 $R^{30B} \sim R^{32B}$ は、それぞれ独立して、(1)水素原子、(2)C1～4アルキル基、(3) $Cyc3^B$ または(4) $Cyc3^B$ によって置換されたC1～4アルキル基を表わし、 $Cyc3^B$ は、(1)C5～6の単環炭素環または(2)1～2個の窒素原子および／または1個の酸素原子を含む5～6員の単環複素環を表わす（ただし、該炭素環または複素環は、C1～4アルコキシ基で置換されていてもよい。）。）を表わし、
- 25

R^{3B} および R^{4B} は、それぞれ独立して、

(1)水素原子、

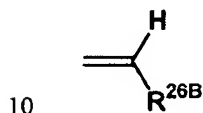
(2) $C1 \sim 4$ アルキル基、または

(3)(a) $Cyc2^B$ および(b)水酸基から任意に選択される1～2個の基によって

5 置換された $C1 \sim 4$ アルキル基

(基中、 $Cyc2^B$ は、(1) $C5 \sim 6$ の単環炭素環または(2)1～2個の窒素原子および／または1個の酸素原子を含む5～6員の単環複素環を表わす。)を表わすか、

R^{3B} と R^{4B} は、一緒になって、



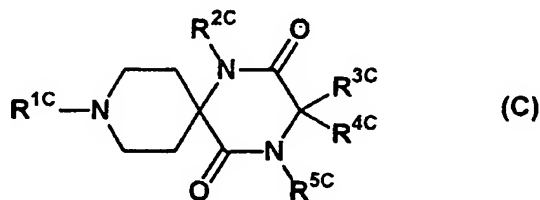
(基中、 R^{26B} は $C1 \sim 4$ アルキル基または $Cyc2^B$ を表わす。)を表わし、

R^{5B} は、水素原子または $C1 \sim 4$ アルキル基を表わす。]

で示されるトリアザスピロ[5.5]ウンデカン誘導体化合物、それらの四級アンモニウム塩、それらのN-オキシドまたはそれらの非毒性塩が知られ

15 ている(WO02/74770号パンフレット参照)。

さらに、ヒト免疫不全ウイルス(以下、HIVと略する。)感染の予防および／または治療剤またはその感染によって引き起こされる後天性免疫不全症候群(エイズ(以下、AIDSと略する。))と呼ばれている。)の予防および／または治療剤として、一般式(C)



20

[式中、 R^{1C} は、

(1)水素原子、

- (2) C¹～18アルキル基、
 (3) C²～18アルケニル基、
 (4) C²～18アルキニル基、
 (5) -COR^{6C}、
 5 (6) -CONR^{7C}R^{8C}、
 (7) -COOR^{9C}、
 (8) -SO₂R^{10C}、
 (9) -COCOR^{11C}、
 (10) -CONR^{12C}COR^{13C}、
 10 (11) Cyc^{1C}、または
 (12)(a)ハロゲン原子、(b) -CONR^{7C}R^{8C}、(c) -COOR^{9C}、(d) -OR^{14C}、
 (e) -SR^{15C}、(f) -NR^{16C}R^{17C}、(g) -NR^{18C}COR^{19C}、(h) -SO₂NR^{20C}R^{21C}、
 (i) -OCOR^{22C}、(j) -NR^{23C}SO₂R^{24C}、(k) -NR^{25C}COOR^{26C}、
 (l) -NR^{27C}CONR^{28C}R^{29C}、(m) Cyc^{1C}、(n) ケト基および(o) -N
 15 (SO₂R^{24C})₂から任意に選択される1～5個の基によって置換されたC¹
 ～18アルキル基、C²～18アルケニル基、またはC²～18アルキニル
 基を表わし、
 R^{6C}～R^{9C}、R^{11C}～R^{21C}、R^{23C}、R^{25C}およびR^{27C}～R^{29C}は、それぞ
 れ独立して
 20 (1)水素原子、
 (2) C¹～8アルキル基、
 (3) C²～8アルケニル基、
 (4) C²～8アルキニル基、
 (5) Cyc^{1C}、または
 25 (6)(a) Cyc^{1C}、(b)ハロゲン原子、(c) -OR^{30C}、(d) -SR^{31C}、(e) -NR^{32C}
 R^{33C}、(f) -COOR^{34C}、(g) -CONR^{35C}R^{36C}、(h) -NR^{37C}COR^{38C}、

(i) $-NR^{39C}SO_2R^{40C}$ および (j) $-N(SO_2R^{40C})_2$ から任意に選択される
1～5個の基によって置換されたC1～8アルキル基、C2～8アルケニル
基、またはC2～8アルキニル基を表わすか、

R^{7C} と R^{8C} 、 R^{20C} と R^{21C} 、 R^{28C} と R^{29C} は一緒になって、

- 5 (1) C2～6アルキレン基、
(2) $-(C2～6アルキレン基)-O-(C2～6アルキレン基)-$ 、
(3) $-(C2～6アルキレン基)-S-(C2～6アルキレン基)-$ 、または
(4) $-(C2～6アルキレン基)-NR^{195C}-(C2～6アルキレン基)-$ (基
中、 R^{195C} は、水素原子、C1～8アルキル基、フェニル基、またはフェニ
ル基によって置換されたC1～8アルキル基を表わす。)を表わし、
10 R^{10C} 、 R^{22C} 、 R^{24C} および R^{26C} はそれぞれ独立して、

- (1) C1～8アルキル基、
(2) C2～8アルケニル基、
(3) C2～8アルキニル基、

- 15 (4) Cyc1^C、または
(5)(a) Cyc1^C、(b)ハロゲン原子、(c) $-OR^{30C}$ 、(d) $-SR^{31C}$ 、(e) $-NR^{32C}$
 R^{33C} 、(f) $-COOR^{34C}$ 、(g) $-CONR^{35C}R^{36C}$ 、(h) $-NR^{37C}COR^{38C}$ 、
(i) $-NR^{39C}SO_2R^{40C}$ および (j) $-N(SO_2R^{40C})_2$ から任意に選択される
1～5個の基によって置換されたC1～8アルキル基、C2～8アルケニル
20 基、またはC2～8アルキニル基を表わし、
 $R^{30C} \sim R^{37C}$ および R^{39C} はそれぞれ独立して、水素原子、C1～8アルキ
ル基、Cyc1^C、またはCyc1^Cによって置換されたC1～8アルキル基
を表わすか、

R^{35C} と R^{36C} は一緒になって、

- 25 (1) C2～6アルキレン基、
(2) $-(C2～6アルキレン基)-O-(C2～6アルキレン基)-$ 、

(3)－(C 2～6アルキレン基)－S－(C 2～6アルキレン基)－、または
 (4)－(C 2～6アルキレン基)－NR^{196c}－(C 2～6アルキレン基)－(基
 中、R^{196c}は、水素原子、C 1～8アルキル基、フェニル基、またはフェニ
 ル基によって置換されたC 1～8アルキル基を表わす。)を表わし、

- 5 R^{38c}およびR^{40c}はそれぞれ独立して、C 1～8アルキル基、Cyc 1^c、
 またはCyc 1^cによって置換されたC 1～8アルキル基を表わし、
 Cyc 1^cは、C 3～15の単環、二環、または三環式（縮合またはスピロ）
 炭素環、または1～4個の窒素原子、1～3個の酸素原子および／または1
 ～3個の硫黄原子を含む3～15員の単環、二環、または三環式（縮合また
 10 はスピロ）複素環を表わす。ただし、Cyc 1^cは1～5個のR^{51c}によって
 置換されていてもよく、

R^{51c}は、

- (1)C 1～8アルキル基、
- (2)C 2～8アルケニル基、
- 15 (3)C 2～8アルキニル基、
- (4)ハロゲン原子、
- (5)ニトロ基、
- (6)トリフルオロメチル基、
- (7)トリフルオロメトキシ基、
- 20 (8)ニトリル基、
- (9)ケト基、
- (10)Cyc 2^c、
- (11)－OR^{52c}、
- (12)－SR^{53c}、
- 25 (13)－NR^{54c}R^{55c}、
- (14)－COOR^{56c}、

- (6)ニトリル基、
 (7)-OR^{78C}、
 (8)-NR^{79C}R^{80C}、
 (9)-COOR^{81C}、
 5 (10)-SR^{82C}、
 (11)-CONR^{83C}R^{84C}、
 (12)C₂~8アルケニル基、
 (13)C₂~8アルキニル基、
 (14)ケト基、
 10 (15)Cyc₆、
 (16)-NR^{161C}COR^{162C}、
 (17)-SO₂NR^{163C}R^{164C}、
 (18)-OCOR^{165C}、
 (19)-NR^{166C}SO₂R^{167C}、
 15 (20)-NR^{168C}COOR^{169C}、
 (21)-NR^{170C}CONR^{171C}R^{172C}、
 (22)-SO₂R^{173C}、
 (23)-N(SO₂R^{167C})₂、
 (24)-S(O)R^{173C}、
 20 (25)(a)ハロゲン原子、(b)-OR^{78C}、(c)-NR^{79C}R^{80C}、(d)-COOR^{81C}、
 (e)-SR^{82C}、(f)-CONR^{83C}R^{84C}、(g)ケト基、(h)Cyc₆、(i)-NR^{161C}COR^{162C}、
 (j)-SO₂NR^{163C}R^{164C}、(k)-OCOR^{165C}、(l)-NR^{166C}SO₂R^{167C}、(m)-NR^{168C}COOR^{169C}、(n)-NR^{170C}CONR^{171C}R^{172C}、
 (o)-SO₂R^{173C}、(p)-N(SO₂R^{167C})₂および(q)-S(O)
 25 R^{173C}から選択される1~5個の基によって置換されたC₁~8アルキル基、
 C₂~8アルケニル基、C₂~8アルキニル基を表わし、

$R^{78C} \sim R^{84C}$ 、 $R^{161C} \sim R^{164C}$ 、 R^{166C} 、 R^{168C} および $R^{170C} \sim R^{172C}$ は、それぞれ独立して、(a)水素原子、(b)C 1～8アルキル基、(c)C 2～8アルケニル基、(d)C 2～8アルキニル基、(e) Cyc_6^C 、(f) Cyc_6^C 、 $-OR^{174C}$ 、 $-COOR^{175C}$ 、 $-NR^{176C}R^{177C}$ 、 $-CONR^{178C}R^{179C}$ によって置換されたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、C 2～8アルキニル基を表わすか、

R^{83C} と R^{84C} 、 R^{163C} と R^{164C} 、 R^{171C} と R^{172C} は一緒になって、

(1)C 2～6アルキレン基、

(2)－(C 2～6アルキレン基)－O－(C 2～6アルキレン基)－、

10 (3)－(C 2～6アルキレン基)－S－(C 2～6アルキレン基)－、または
(4)－(C 2～6アルキレン基)－ NR^{198C} －(C 2～6アルキレン基)－(基中、 R^{198C} は、水素原子、C 1～8アルキル基、フェニル基、またはフェニル基によって置換されたC 1～8アルキル基を表わす。)を表わし、

15 R^{165C} 、 R^{167C} 、 R^{169C} および R^{173C} はそれぞれ独立して、(a)C 1～8アルキル基、(b)C 2～8アルケニル基、(c)C 2～8アルキニル基、(d) Cyc_6^C 、または(e) Cyc_6^C 、 $-OR^{174C}$ 、 $-COOR^{175C}$ 、 $-NR^{176C}R^{177C}$ 、 $-CONR^{178C}R^{179C}$ によって置換されたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、C 2～8アルキニル基を表わし、

$R^{174C} \sim R^{177C}$ はそれぞれ独立して、

20 (1)水素原子、

(2)C 1～8アルキル基、

(3) Cyc_6^C 、または

(4) Cyc_6^C によって置換されたC 1～8アルキル基を表わすか、

R^{178C} と R^{179C} は一緒になって、

25 (1)C 2～6アルキレン基、

(2)－(C 2～6アルキレン基)－O－(C 2～6アルキレン基)－、

- (3)－(C 2～6アルキレン基)－S－(C 2～6アルキレン基)－、または
 (4)－(C 2～6アルキレン基)－NR^{199C}－(C 2～6アルキレン基)－(基
 中、R^{199C}は、水素原子、C 1～8アルキル基、フェニル基、またはフェニ
 ル基によって置換されたC 1～8アルキル基を表わす。)を表わし、
- 5 Cyc 6^Cは、C 3～8の単環式炭素環または1～4個の窒素原子、1～2個
 の酸素原子および／または1～2個の硫黄原子を含む3～8員の単環式複素
 環を表わす。ただし、Cyc 6^Cは1～5個のR^{180C}によって置換されていて
 もよく、
 R^{180C}は、
- 10 (1)C 1～8アルキル基、
 (2)ハロゲン原子、
 (3)ニトロ基、
 (4)トリフルオロメチル基、
 (5)トリフルオロメトキシ基、
- 15 (6)ニトリル基、
 (7)－OR^{181C}、
 (8)－NR^{182C}R^{183C}、
 (9)－COOR^{184C}、
 (10)－SR^{185C}、または
- 20 (11)－CONR^{186C}R^{187C}を表わし、
 R^{181C}～R^{187C}はそれぞれ独立して、
 (1)水素原子、
 (2)C 1～8アルキル基、
 (3)フェニル基、または
- 25 (4)フェニル基によって置換されたC 1～8アルキル基を表わすか、
 R^{182C}とR^{183C}、R^{186C}とR^{187C}は一緒になって、

- (1) C₂～6アルキレン基、
 (2) - (C₂～6アルキレン基) - O - (C₂～6アルキレン基) -、
 (3) - (C₂～6アルキレン基) - S - (C₂～6アルキレン基) -、または
 (4) - (C₂～6アルキレン基) - NR^{200C} - (C₂～6アルキレン基) - (基
 5 中、R^{200C}は、水素原子、C₁～8アルキル基、フェニル基、フェニル基に
 よって置換されたC₁～8アルキル基を表わす。)を表わし、
 R^{2C}は、
 (1)水素原子、
 (2)C₁～8アルキル基、
 10 (3)C₂～8アルケニル基、
 (4)C₂～8アルキニル基、
 (5)-OR^{90C}、
 (6)Cyc^{3C}、または
 (7)(a)ハロゲン原子、(b)-OR^{90C}、(c)-SR^{91C}、(d)-NR^{92C}R^{93C}、(e)
 15 -COOR^{94C}、(f)-CONR^{95C}R^{96C}、(g)-NR^{97C}COR^{98C}、(h)-S
 O₂NR^{99C}R^{100C}、(i)-OCOR^{101C}、(j)-NR^{102C}SO₂R^{103C}、(k)
 -NR^{104C}COOR^{105C}、(l)-NR^{106C}CONR^{107C}R^{108C}、(m)Cyc^{3C}、
 (n)ケト基および(o)-N(SO₂R^{103C})₂から任意に選択される1～5
 20 個の基によって置換されたC₁～8アルキル基、C₂～8アルケニル基また
 はC₂～8アルキニル基を表わし、
 R^{90C}～R^{100C}、R^{102C}、R^{104C}およびR^{106C}～R^{108C}はそれぞれ独立し
 て、
 (1)水素原子、
 (2)C₁～8アルキル基、
 25 (3)C₂～8アルケニル基、
 (4)C₂～8アルキニル基、

- (5) Cyc_3^C 、または
- (6) Cyc_3^C によって置換された $C_1 \sim 8$ アルキル基、 $C_2 \sim 8$ アルケニル基、 $C_2 \sim 8$ アルキニル基を表わすか、
- R^{95C} と R^{96C} 、 R^{99C} と R^{100C} 、 R^{107C} と R^{108C} は一緒になって、
- 5 (1) $C_2 \sim 6$ アルキレン基、
- (2) $-(C_2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-O-(C_2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-$ 、
- (3) $-(C_2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-S-(C_2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-$ 、または
- (4) $-(C_2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-NR^{201C}-(C_2 \sim 6 \text{ アルキレン基})-$ を表わし、
- 10 R^{201C} は、水素原子、 $C_1 \sim 8$ アルキル基、フェニル基、またはフェニル基によって置換された $C_1 \sim 8$ アルキル基を表わし、
- R^{101C} 、 R^{103C} および R^{105C} はそれぞれ独立して、
- (1) $C_1 \sim 8$ アルキル基、
- (2) $C_2 \sim 8$ アルケニル基、
- 15 (3) $C_2 \sim 8$ アルキニル基、または
- (4) Cyc_3^C または Cyc_3^C によって置換された $C_1 \sim 8$ アルキル基、 $C_2 \sim 8$ アルケニル基、 $C_2 \sim 8$ アルキニル基を表わし、
- Cyc_3 は Cyc_1 と同じ意味を表わす。
- ただし、 Cyc_3^C は1～5個の R^{109C} によって置換されていてもよく、
- 20 R^{109C} は R^{51C} と同じ意味を表わし、
- R^{3C} および R^{4C} はそれぞれ独立して、
- (1) 水素原子、
- (2) $C_1 \sim 8$ アルキル基、
- (3) $C_2 \sim 8$ アルケニル基、
- 25 (4) $C_2 \sim 8$ アルキニル基、
- (5) $-COOR^{120C}$ 、

- (6) $-\text{CONR}^{121\text{C}}\text{R}^{122\text{C}}$ 、
 (7) $\text{Cyc}4^{\text{C}}$ 、または
 (8)(a)ハロゲン原子、(b)ニトリル基、(c) $\text{Cyc}4^{\text{C}}$ 、(d) $-\text{COOR}^{120\text{C}}$ 、(e) $-\text{CONR}^{121\text{C}}\text{R}^{122\text{C}}$ 、(f) $-\text{OR}^{123\text{C}}$ 、(g) $-\text{SR}^{124\text{C}}$ 、(h) $-\text{NR}^{125\text{C}}\text{R}^{126\text{C}}$ 、
 5 (i) $-\text{NR}^{127\text{C}}\text{COR}^{128\text{C}}$ 、(j) $-\text{SO}_2\text{NR}^{129\text{C}}\text{R}^{130\text{C}}$ 、(k) $-\text{OCOR}^{131\text{C}}$ 、(l) $-\text{NR}^{132\text{C}}\text{SO}_2\text{R}^{133\text{C}}$ 、(m) $-\text{NR}^{134\text{C}}\text{COOR}^{135\text{C}}$ 、(n) $-\text{NR}^{136\text{C}}\text{CONR}^{137\text{C}}\text{R}^{138\text{C}}$ 、(o) $-\text{S}-\text{SR}^{139\text{C}}$ 、(p) $-\text{NHC} (= \text{NH}) \text{NHR}^{140\text{C}}$ 、(q)ケト基、(r) $-\text{NR}^{145\text{C}}\text{CONR}^{146\text{C}}\text{COR}^{147\text{C}}$ および(s) $-\text{N}(\text{SO}_2\text{R}^{133\text{C}})_2$ から選択された1～5個の基によって置換されたC1～8
 10 アルキル基、C2～8アルケニル基、またはC2～8アルキニル基を表わし、
 $\text{R}^{120\text{C}} \sim \text{R}^{130\text{C}}$ 、 $\text{R}^{132\text{C}}$ 、 $\text{R}^{134\text{C}}$ 、 $\text{R}^{136\text{C}} \sim \text{R}^{138\text{C}}$ 、 $\text{R}^{145\text{C}}$ および $\text{R}^{146\text{C}}$ はそれぞれ独立して、
 (1)水素原子、
 (2)C1～8アルキル基、
 15 (3)C2～8アルケニル基、
 (4)C2～8アルキニル基、
 (5) $\text{Cyc}4^{\text{C}}$ 、または
 (6) $\text{Cyc}4^{\text{C}}$ 、ハロゲン原子、 $-\text{OR}^{148\text{C}}$ 、 $-\text{SR}^{149\text{C}}$ 、 $-\text{COOR}^{150\text{C}}$ 、
 または $-\text{NHCOR}^{141\text{C}}$ によって置換されたC1～8アルキル基、C2～8
 20 アルケニル基、C2～8アルキニル基を表わすか、
 $\text{R}^{121\text{C}}$ と $\text{R}^{122\text{C}}$ 、 $\text{R}^{129\text{C}}$ と $\text{R}^{130\text{C}}$ 、 $\text{R}^{137\text{C}}$ と $\text{R}^{138\text{C}}$ は一緒になって、
 (1)C2～6アルキレン基、
 (2) $-(\text{C}2 \sim 6 \text{アルキレン基})-\text{O}-(\text{C}2 \sim 6 \text{アルキレン基})-$ 、
 (3) $-(\text{C}2 \sim 6 \text{アルキレン基})-\text{S}-(\text{C}2 \sim 6 \text{アルキレン基})-$ 、または
 25 (4) $-(\text{C}2 \sim 6 \text{アルキレン基})-\text{NR}^{202\text{C}}-(\text{C}2 \sim 6 \text{アルキレン基})-$ を表わし(基中、 $\text{R}^{202\text{C}}$ は、水素原子、C1～8アルキル基、フェニル基、フ

エニル基によって置換されたC 1～8アルキル基を表わし、

R^{131C} 、 R^{133C} 、 R^{135C} 、 R^{139C} および R^{147C} は、それぞれ独立して、

(1)C 1～8アルキル基、

(2)C 2～8アルケニル基、

5 (3)C 2～8アルキニル基、

(4)Cyc 4^C、または

(5)Cyc 4^C、ハロゲン原子、 $-OR^{148C}$ 、 $-SR^{149C}$ 、 $-COOR^{150C}$ 、

または $-NHCO R^{141C}$ によって置換されたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、C 2～8アルキニル基を表わし、

10 R^{140C} は、水素原子、 $-COOR^{142C}$ 、または $-SO_2R^{143C}$ を表わし、

$R^{141C} \sim R^{143C}$ は、それぞれ独立して、

(1)C 1～8アルキル基、

(2)C 2～8アルケニル基、

(3)C 2～8アルキニル基、

15 (4)Cyc 4^C、または

(5)Cyc 4^Cによって置換されたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、C 2～8アルキニル基を表わし、

$R^{148C} \sim R^{150C}$ は、それぞれ独立して、

(1)水素原子、

20 (2)C 1～8アルキル基、

(3)C 2～8アルケニル基、

(4)C 2～8アルキニル基、

(5)Cyc 4^C、または

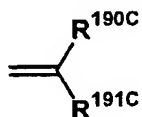
(6)Cyc 4^Cによって置換されたC 1～8アルキル基、C 2～8アルケニル基、

25 C 2～8アルキニル基を表わし、

Cyc 4^CはCyc 1^Cと同じ意味を表わす。ただし、Cyc 4^Cは1～5個の

R^{144C} によって置換されていてもよく、 R^{144C} は R^{51C} と同じ意味を表わす。)を表わすか、

R^{3C} と R^{4C} は一緒になって、



- 5 (基中、 R^{190C} および R^{191C} はそれぞれ独立して、 R^3 または R^4 と同じ意味を表わす。)を表わし、

R^{5C} は、

(1)水素原子、

(2) $C1 \sim 8$ アルキル基、

- 10 (3) $Cyc5C$ 、または

(4) $Cyc5C$ によって置換された $C1 \sim 8$ アルキル基を表わす。

(基中、 $Cyc5C$ は $Cyc1C$ と同じ意味を表わす。ただし、 $Cyc5C$ は1～5個の R^{160C} によって置換されていてもよく、

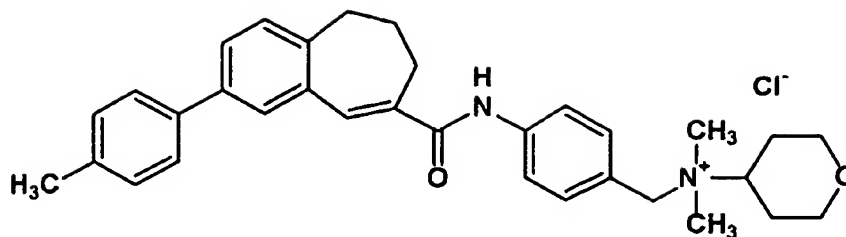
R^{160C} は R^{51C} と同じ意味を表わす。]

- 15 で示される少なくとも一つのトリアザスピロ[5.5]ウンデカン誘導体、それらの四級アンモニウム塩、それらのN-オキシドまたはそれらの非毒性塩が知られている (WO02/74769 号パンフレット参照)。

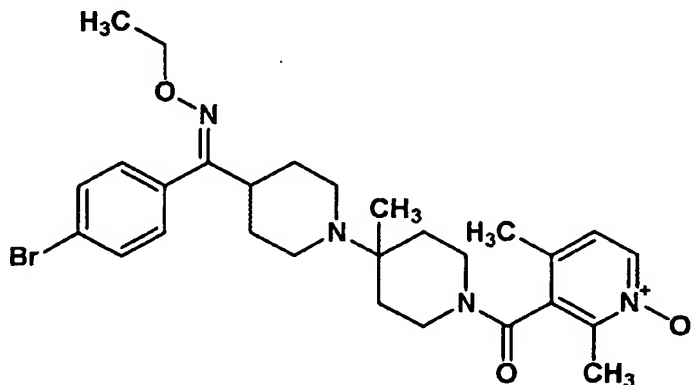
また、 $CCR5$ アンタゴニストとして、アニリド誘導体が知られており、

特にTAK-779が臨床候補化合物であることが記載されている (「ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー」, 第43巻, 第10号, p. 2049-2063

- 20 参照)。

**TAK-779**

さらに、CCR5アンタゴニストとして、オキシミノーピペリジノーペ
 リジンアミド誘導体が知られており、特に SCH-351125 が臨床候補化合物であ
 ることが記載されている（「ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリ
 5 ー」，第45巻，第14号，p. 3143-3160 参照）。

**SCH-351125**

発明の開示

これまでにCCR5に結合するアンタゴニストおよびアゴニストが数多く
 10 見出されている。しかし、これまで見出されたCCR5に結合するアンタゴ
 ニストおよびアゴニストは、受容体との結合強度が不明であった。本発明に
 おいて、受容体結合強度とは、単なる結合親和性を指すだけでなく、結合す
 る部位との結合の様式も含めた総合的な結合に関わる強度を意味する。さら
 に、本発明において、強結合部位とは、ある物質がそこに結合することで、

受容体からの当該物質の解離速度が遅く、従って受容体に対する高親和性という特徴を有し、または当該物質がその部位に結合することから占有する空間や受容体に与えるコンフォメーション変化が充分なものとなる特徴を有する物質が結合する部位であることを意味する。従来のCCR5結合性物質は、受容体結合強度が弱いものであり、強結合部位に結合しないため、その薬理効果が不十分であるという問題があった。

また、通常のリガンド結合実験をスクリーニングに用いた場合、リガンド結合阻害活性が充分であるにもかかわらず、強結合部位に結合しないために、その薬理効果が不十分であり、期待通りの薬理効果を望めないアンタゴニストおよびアゴニストをふるい落とすことができないという問題があった。従って、薬理効果が充分なCCR5に結合するアンタゴニストおよびアゴニストの効率的な選択方法の開発が望まれていた。

上記特徴を有する強結合部位に結合する化合物を効率良く見出す方法を構築できれば、充分な薬理効果を期待できる特徴を持った化合物を見出すことが可能となる。

例えば、CCR5アンタゴニストおよびアゴニストの薬理効果の1つである抗HIV作用の場合、強結合部位に結合する特徴を有すれば、受容体CCR5に対する高い結合親和性に加え、解離速度ができるだけ遅い、HIVのgp120が結合に使用する部位をできるだけ大きく占有する、或いは受容体のコンフォメーション変化がHIVのgp120の結合に適さない構造を生じさせると云った望ましい特徴が付加されることとなり、大きな利点となる。強結合部位の存在という概念の他にも、抗HIV活性に着目した場合、CCR5上の第2ループの存在は示唆されている (Lee B ら (1997) J. Biol. Chem. 274, 9617-26、Kuhmann, S ら(1997) J. Virol. 71, 8642-8656、Ross, T ら(1997) J. Virol. 72, 1918-1924)) 。

しかし、CCR5におけるアンタゴニストおよびアゴニストの強結合部位

の存在とそこに結合する化合物は発見されておらず、該化合物のスクリーニング方法は未だ知られていない。

本発明者らは、上記した問題を解決すべく鋭意検討を重ねた結果、CCR5に強結合部位が存在することを発見し、また、その部位に結合する化合物のスクリーニング方法を具体的に構築し、さらに、該化合物が有用であることを見出し本発明を完成した。

本発明は、

1. CCR5の強結合部位に結合するアンタゴニストまたはアゴニスト（ただし、WO01/40227号パンフレット、WO02/74769号パンフレット、WO02/74770号パンフレットに記載された化合物およびSCH-351125は除く。）、
2. 前記1記載のアンタゴニストまたはアゴニストを含有することを特徴とするアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患の予防および／または治療剤、
3. アレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および癌疾患が、喘息、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、アレルギー性好酸球性胃腸症、腎炎、腎症、肝炎、関節炎、慢性関節リウマチ、乾癬、鼻炎、結膜炎、虚血再灌流傷害、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、急性呼吸窮迫症候群、細菌感染に伴うショック、糖尿病、自己免疫疾患、移植臓器拒絶反応、免疫抑制、癌転移、HIV感染および後天性免疫不全症候群から選択される疾患である前記2記載の予防および／または治療剤、
4. 免疫疾患が、HIV感染、後天性免疫不全症候群および／または移植臓器拒絶反応である前記2記載の予防および／または治療剤、
5. CCR5の強結合部位に結合する化合物をスクリーニングする方法であって、
 - (a) CCR5発現細胞またはその膜面分と被験化合物を接触させる工程、
 - (b) 細胞または膜を1～12回洗浄する工程、および
 - (c) 標識リガンドを加え、結合した標識リガンドの結合量を測定する工程

- を含むことを特徴とするスクリーニング方法、
6. 細胞または膜を洗浄する回数が、6～10回である前記5記載の方法、
7. CCR5の強結合部位に結合する化合物をスクリーニングする方法であって、
- 5 (a) CCR5発現細胞またはその膜面分と被験化合物を接触させる工程、
(b) 前記(a)工程で調製された被験化合物と結合した細胞またはその膜面分を、標識された抗CCR5抗体と接触させる工程、および
(c) CCR5発現細胞またはその膜面分に結合した標識された抗CCR5抗体を測定する工程を含むことを特徴とするスクリーニング方法、
- 10 8. 抗CCR5抗体が、45531.111抗体および/または45523.111抗体である前記7記載の方法、
9. CCR5を発現している細胞または膜面分上に結合している化合物の占有率を測定する方法であって、
(a) CCR5発現細胞またはその膜面分と被験化合物を接触させる工程、
- 15 (b) 前記(a)工程で調製された被験化合物と結合した細胞またはその膜面分を、標識された抗CCR5抗体と接触させる工程、および
(c) 細胞または膜面分上のCCR5に結合している化合物の占有率を、化合物がCCR5と結合していない場合の抗CCR5抗体の結合量を100%とした際の、化合物がCCR5に結合している場合の抗CCR5抗体の結合
- 20 量の割合によって算出する工程を含むことを特徴とする測定方法、
10. 血中のCCR5を発現している細胞上の結合部位に結合する化合物の占有率を経時的にモニターする方法であって、
(a) CCR5の結合部位に結合する化合物を哺乳動物に投与した後、血中のCCR5を発現している細胞含む細胞集団を分離する工程、
- 25 (b) 分離された細胞集団を標識された抗CCR5抗体と接触する工程、および
(c) 分離された細胞上のCCR5の結合部位に結合する化合物の占有率を、

- 化合物がCCR5と結合していない場合の抗CCR5抗体の結合量を100%とした際の、化合物がCCR5に結合している場合の抗CCR5抗体の結合量の割合によって算出する工程を含むことを特徴とするモニター方法、
11. 抗CCR5抗体が、45531.111 抗体および／または 45523.111 抗体である前記10記載の方法、
12. CCR5の結合部位に結合する化合物を投与した際に有効性を示す投与量と投与回数を決定する方法であって、
- (a) インビトロ (in vitro) 活性測定法によりCCR5の結合部位に結合する化合物の阻害活性 IC_{50} 値または IC_{90} 値を測定する工程、
- 10 (b) 上記 (a) 記載の IC_{50} 値または IC_{90} 値に相当する化合物濃度でのCCR5発現細胞上のCCR5の結合部位に結合する化合物の占有率を前記9記載の方法により算出する工程、
- (c) 前記10記載のモニター方法により得られた、各投与量および各モニター時間のCCR5の結合部位に結合する化合物の占有率と上記 (b) 記載
- 15 の方法により得られた占有率を比較する工程を含むことを特徴とする阻害率がおよそ50%または90%となる投与量と投与回数を決定する方法、
13. インビトロ (in vitro) 活性測定法が抗HIV活性測定法である前記12記載の方法、
14. 前記5、7、9、10および／または12記載の方法によって選択されたCCR5の強結合部位に結合する化合物を有効成分として含有するアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患の予防および／または治療剤、
- 20 15. 免疫疾患が、HIV感染、後天性免疫不全症候群および／または移植臓器拒絶反応である前記14記載の予防および／または治療剤、
- 25 16. 投与方法が、1日1回、2日1回、3日1回または数日1回、経口的または非経口的に投与することを特徴とする前記2または14記載の予防および／または治療剤、

17. 免疫疾患が、H I V感染、後天性免疫不全症候群および／または移植臓器拒絶反応である前記16記載の予防および／または治療剤、
18. 1日1回、2日1回、3日1回または数日1回、経口的または非経口的に投与することを特徴とするCCR5の強結合部位に結合するアンタゴニストおよび／またはアゴニストをスクリーニングする方法、
19. ケモカイン受容体の強結合部位に結合するアゴニストまたはアンタゴニスト、
20. 前記19記載のアゴニストまたはアンタゴニストを含有することを特徴とするアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患の予防および／または治療剤、
21. アレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患または癌疾患が喘息、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、アレルギー性好酸球性胃腸症、腎炎、腎症、肝炎、関節炎、慢性関節リウマチ、乾癬、鼻炎、結膜炎、虚血再灌流傷害、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、急性呼吸窮迫症候群、細菌感染に伴うショック、糖尿病、自己免疫疾患、移植臓器拒絶反応、免疫抑制、癌転移、H I V感染および後天性免疫不全症候群から選択される疾患である前記20記載の予防および／または治療剤、
22. ケモカイン受容体の強結合部位に結合する化合物をスクリーニングする方法であって、
- (a) ケモカイン受容体発現細胞またはその膜画分と被験化合物を接触させる工程、
- (b) 細胞または膜を1～12回洗浄する工程、および
- (c) 標識リガンドを加え、結合した標識リガンドの結合量を測定する工程を含むことを特徴とするスクリーニング方法、
23. ケモカイン受容体の強結合部位に結合する化合物をスクリーニングする方法であって、
- (a) ケモカイン受容体発現細胞またはその膜画分と被験化合物を接触させ

る工程、

(b) 前記 (a) 工程で調製された被験化合物と結合した細胞またはその膜画分を、標識された抗ケモカイン受容体抗体と接触させる工程、および

(c) ケモカイン受容体発現細胞またはその膜画分に結合した標識された抗ケモカイン受容体抗体を測定する工程を含むことを特徴とするスクリーニング方法、

24. 前記 22 または 23 記載の方法により選択されたケモカイン受容体の強結合部位に結合する化合物を有効成分として含有するアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患の予防および／または治療剤、

10 25. 前記 1 記載のアゴニストまたはアンタゴニストの有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする、哺乳動物における CCR5 介在性疾患の予防および／または治療方法、

26. 前記 19 記載のアンタゴニストまたはアゴニストの有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする、哺乳動物におけるケモカイン受容体介在性疾患の予防および／または治療方法、

27. 前記 5、7、9、10 または 12 記載の方法によって選択された CCR5 の強結合部位に結合する化合物を有効成分として含有するアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患の予防および／または治療方法、

20 28. CCR5 介在性疾患の予防および／または治療剤を製造するための前記 1 記載のアゴニストおよび／またはアンタゴニストの使用、

29. ケモカイン受容体介在性疾患の予防および／または治療剤を製造するための前記 19 記載のアゴニストおよび／またはアンタゴニストの使用、

30. CCR5 介在性疾患の予防および／または治療剤を製造するための前記 5、7、9、10 および／または 12 記載の方法によって、選択された CCR5 の強結合部位に結合する化合物の使用、

31. 前記 5、7、9、10 または 12 記載の方法によって選択された CCR5

R 5 の強結合部位に結合する化合物、および

32. 前記5、7、9、10または12記載の方法によって選択されたCCR5の強結合部位に結合する化合物の製造方法等に関する。

5 本発明において、CCR5またはケモカイン受容体の強結合部位に結合するアンタゴニストおよびアゴニストとは、当該物質がそこに結合することで、受容体からの当該物質の解離速度が遅く、従って受容体に対する高親和性という特徴を有し、または当該物質がその部位に結合することから占有する空間や受容体に与えるコンフォメーション変化が充分なものとなる特徴を有する物質である。

10 本発明において、CCR5の強結合部位に結合するアンタゴニストおよびアゴニストを用いることで予防および／または治療できる疾患とは、CCR5が起因する疾患であればよく、アレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および癌疾患に限定されない。アレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および癌疾患とは、例えば、喘息、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、アレルギー性好酸球性胃腸症、腎炎、腎症、肝炎、関節炎、慢性関節リウマチ、乾癬、鼻炎、結膜炎、虚血再灌流傷害、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、急性呼吸窮迫症候群、細菌感染に伴うショック、糖尿病、自己免疫疾患、移植臓器拒絶反応、免疫抑制、癌転移、HIV感染および／または後天性免疫不全症候群等である。

20 本発明において、ケモカイン受容体の強結合部位に結合するアゴニストおよびアンタゴニストを用いることで予防および／または治療できる疾患とは、ケモカイン受容体が起因する疾患であればよく、アレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および癌疾患に限定されない。アレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および癌疾患とは、例えば、喘息、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、アレルギー性好酸球性胃腸症、腎炎、腎症、肝炎、関節炎、慢性関節リウマチ、乾癬、鼻炎、結膜炎、虚血再灌流

25

傷害、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、急性呼吸窮迫症候群、細菌感染に伴うショック、糖尿病、自己免疫疾患、移植臓器拒絶反応、免疫抑制、癌転移、H I V感染および後天性免疫不全症候群等である。

本発明におけるCCR 5の強結合部位に結合するアンタゴニストおよびア
5 ゴニストとは、現在までに見出されているもの、および今後見出されるものをすべて含む。

本発明におけるケモカイン受容体の強結合部位に結合するアンタゴニストおよびアゴニストとは、現在までに見出されているもの、および今後見出されるものをすべて含む。

10 本発明において、化合物とはアンタゴニストおよびアゴニストを意味する。

本発明において化合物が結合する部位は、CCR 5に限定されない。例えば、一般的なケモカイン受容体、すなわちケモカイン受容体の強結合部位に結合する化合物（アゴニストおよび／またはアンタゴニスト）にも適用できる。ケモカイン受容体としては、例えば、CCR 1、CCR 2、CCR 3、
15 CCR 4、CCR 6、CCR 7、CCR 8、CCR 9、CCR 10、CCR 11、CXCR 1、CXCR 2、CXCR 3、CXCR 4、CXCR 5、CXCR 6、CX3CR、XCR 1等が挙げられる。

また、本発明のスクリーニングする方法については、CCR 5発現細胞の代わりに、CCR 5の膜画分を用いても実施可能である。さらに、CCR 5
20 発現細胞またはその膜画分の代わりに、他のケモカイン受容体発現細胞またはその膜画分を用いても実施可能である。

本発明のうち、抗CCR 5抗体を用いた方法に関しては、抗CCR 5抗体の代わりに、他のケモカイン受容体抗体を用いても実施可能である。例えば、他のケモカイン受容体抗体に対する抗体であって、アンタゴニストまたはア
25 ゴニストがそのケモカイン受容体に結合している場合に、そのケモカイン受容体に結合しない性質を有するものであればよい。

本発明のスクリーニングにおける抗CCR5抗体としては、45531.111、45523.111に限定されず、強結合部位に結合するアゴニストまたはアンタゴニストがCCR5に結合している場合に、CCR5に結合しない抗体であればよい。

- 5 本発明のスクリーニングにおける標識とは、物質の結合量を同定することができればよく、例えば、放射性標識、蛍光標識や酵素標識等が挙げられるが、これらに限定されない。

- 本発明における標識リガンドとしては、好ましくは、放射性リガンド（例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S または ^{125}I 等のアイソトープで標識されたリ
- 10 ガンド）であり、より好ましくは、CCR5またはケモカイン受容体のリガンドがヨードラベル（ ^{125}I ）されたものである。CCR5またはケモカイン受容体のリガンドとしては、MIP-1 α 、MIP-1 β 、RANTES、MCP-1、SDF-1、MDC、TARC、MIP-3 α 、MIP-3 β 、SLC、Eotaxin、CTACK、I-309、TECK、CCL28、IL-
- 15 8、GRO、IP-10、BCA、CXCL、Fractalkine、lymphotactin等が挙げられる。

本発明において、哺乳動物には、ヒトやヒト以外の哺乳動物（例えば、ラット、マウス、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サル等）が含まれる。

- 20 本発明において、数日とは、4～14日を意味する。

- 本発明のCCR5の強結合部位に結合する化合物は、例えば、後記した方法によってアンタゴニストであるかアゴニストであるかを判定することができる。この判定方法は、アンタゴニストであるか、アゴニストであるかを判定することができるものであればよく、後記した方法以外に、公知の方法に
- 25 よっても判定することができる。

上記アンタゴニストとアゴニストの判定方法は、本発明のCCR5の強結

合部位に結合する化合物のスクリーニングの前に行なっても、後に行なってもよく、その順序は限定されない。

以下に、本発明のスクリーニング方法および強結合部位について詳細に証明する。

- 5 本発明者らは、CCR5 アンタゴニストを用いて、以下の3つの実験によって強結合部位が存在することを確認した。

(1) 強結合部位に結合する化合物の結合解離に関する検討

- CCR5 内因性リガンドのCCR5 に対する結合実験の系で、CCR5 アンタゴニスト (例えば、TAK-779、SCH-351125、トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体) の阻害効果を検討した。この実験系では一旦化合物を CCR5 に結合させ、その後化合物を取り除くために洗浄を繰り返す (例えば 10 1~12 回、好ましくは、6~10 回、より好ましくは、8 回以上繰り返す) ことにより通常より強い洗浄を施した後、新たな平衡状態を作りだすため一定時間放置 (例えば4 時間以上放置) して、阻害効果を確認した。その結果、
- 15 SCH-351125 および TAK-779 はそれぞれ IC_{50} 値 16.7 および 10.4 nmol/L を示した。これに対し、(3R)-1-ブチル-2, 5-ジオキソ-3-((1R)-1-ヒドロキシ-1-シクロヘキシルメチル)-9-(4-(4-カルボキシフェニルオキシ) フェニルメチル)-1, 4, 9-トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン・塩酸塩 (以下、化合物 1 と略記する。) および
- 20 (3R)-1-ブチル-2, 5-ジオキソ-3-((1R)-1-ヒドロキシ-1-シクロヘキシルメチル)-9-(4-(4-メチルアミノカルボニルフェニルオキシ) フェニルメチル)-1, 4, 9-トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン・塩酸塩 (以下、化合物 2 と略記する。) はそれぞれ IC_{50} 値 4.2 および 1.5 nmol/L を示し、この操作を施した後 (きびしい洗浄条件下) でもリガンド結合阻害効果が強い化合物を見出した。
- 25

(2) 強結合部位に結合する化合物の結合様式に関する検討

- 更に、上記実験においてリガンド結合阻害効果が強い化合物の結合様式を検討するために、CCR5 アンタゴニスト（例えば、TAK-779、SCH-351125、トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体）と抗CCR5 抗体（45531.111（R&D Cat No. FAB182F, Lot JG019021）、45523.111（R&D Cat No. FAB181F, Lot JF019033））を用いた。その結果、TAK-779 は 45531.111 と 45523.111 両抗体のCCR5 結合を弱くしか阻害しなかった。SCH-351125 は 45523.111 抗体の結合は阻害したが、45531.111 抗体結合の阻害程度は TAK-779 と同程度で弱いものであった。しかし、トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体（例えば、化合物 1 または化合物 2）は両抗体の結合を強く阻害した。すなわち、トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体は、TAK-779、SCH-351125 と比較してCCR5 に対する結合様式が異なることを見出した。すなわち、トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体（例えば、化合物 1 または化合物 2）は、使用した抗体に対して比較すると最もCCR5 に対する親和性が高いこと、CCR5 上のより広範な領域に影響を与えるという特徴を有する。
- （3）強結合部位に結合する化合物の競合実験

また、トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体が TAK-779、SCH-351125 と競合的に拮抗するか否かを検討したところ、例えば化合物 1 は、CCR5 に対して TAK-779、SCH-351125 と競合的に拮抗することが確認された。

- 上述の 3 種の、トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体は、TAK-779、SCH-351125 と競合的に拮抗することを示す実験結果から、それらとまったく異なる部位に結合しているわけではないことが明らかとなった。しかし、これらの化合物は結合部位に共通する部分はあるが、当該化合物がCCR5 に結合した状態の立体構造は異なることが、抗体 45531.111 や 45523.111 を用いた実験で証明された。トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体は、きびしい洗浄条件下でより強いリガンド結合阻害効果を有し、抗体 45531.111 や 45523.111 の結合に対する阻害もより強いものであることを特徴とする。これ

らの事実から、トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体の特徴は、抗体 45531.111 や 45523.111 で規定されるエピトープからなる領域に限定されず、むしろ、結合することにより CCR 5 にコンフォメーション変化を誘導し、広範な領域に影響を及ぼす。このような変化によって、CCR 5 と接触している部分の親和性が高くなり、または安定な結合状態から解離という状態への変遷に大きなエネルギーを必要とするため、解離速度が遅くなるのである。

本発明においては、例えば、上述したトリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体のような結合様式の特徴を有する化合物を、強結合部位に結合するアンタゴニストと定義する。

10 また、本発明者らは、強結合部位に結合するアンタゴニストの有用性を証明するために、CCR 5 アンタゴニスト（例えば、TAK-779、SCH-351125、トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体）を用いて、強結合部位に結合するアンタゴニストの特徴と細胞遊走阻害作用との関係を検討した。細胞遊走の 50% 阻害率は、SCH-351125 が 14.4 nmol/L 、TAK-779 が 55 nmol/L に対して、トリアザスピロ [5. 5] ウンデカン誘導体、例えば化合物 1 は 4.3 nmol/L であった。すなわち、きびしい洗浄条件下のリガンド結合阻害効果並びに抗 CCR 5 抗体（45531.111、45523.111）を用いた抗体結合阻害効果がより強い化合物が、CCR 5 アンタゴニストの薬理活性の一つである細胞遊走に対してより強い阻害効果を示すことを見出した。更に、CCR 5 のひとつのリガンドとも見なし得る HIV に対する効果（抗 HIV 活性）とも相関した。

従って、本発明者らは、強結合部位に結合する化合物をスクリーニングする方法が、きびしい洗浄条件下のリガンド結合阻害活性を測定し、45531.111 抗体或いは 45523.111 抗体のどちらか一方（好ましくは 45531.111 抗体）か、もしくは両抗体の結合阻害を測定することによって達成されることを見出した。

本発明の強結合部位に結合する化合物は、きびしい洗浄条件下のリガンド結合阻害活性を測定のスクリーニングおよび／または抗CCR5抗体を用いたスクリーニングによって判定することができる。

更に、本発明者らはこれら強結合部位に結合する化合物が、実際循環血中で受容体に結合していることをモニターする方法を構築し、それらの化合物が長時間結合していることを確認した。本発明者らは、CCR5を発現している細胞に当該化合物をインビトロ (in vitro) で結合させ、動物、例えばマウスに移入した後、経時的にその細胞を採取してCCR5上の化合物の残留を計測した。化合物の残留の計測には、当該化合物が結合を阻害する抗体であれば良いが、望ましくは上記45531.111抗体を用いてモニターする。その結果、強結合部位に結合する化合物が循環血中でも長時間CCR5上に留まることを見出した。すなわち、概化合物の特徴として長時間薬理効果が持続することが挙げられる。

このように、本発明者らは、従来知られている結合部位と異なった新しいCCR5の強結合部位を見出し、また、そこに結合する化合物が、持続的に結合することを見出し、本発明を完成した。

このような強結合部位に結合する化合物は、作用が持続するため、薬剤の投与回数を減らすことができる。例えば、1日1回、2日1回、3日1回または数日1回、経口的または非経口的に投与することをよっても、CCR5アンタゴニストおよび／またはアゴニストの薬理効果を持続するものである。

[医薬品への適用]

本発明のCCR5アンタゴニストおよび／またはアゴニストは、ヒトを含めた動物、特にヒトにおいて、各種炎症性疾患、喘息、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー疾患（アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、アレルギー性好酸球性胃腸症等）、腎炎、腎症、肝炎、関節炎、慢性関節リウマチ、乾癬、鼻炎、結膜炎、虚血再灌流傷害、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、急性

呼吸窮迫症候群、細菌感染に伴うショック、糖尿病、自己免疫疾患、移植臓器拒絶反応、免疫抑制、癌転移、後天性免疫不全症候群の予防および／または治療に有用である。

- 5 本発明のCCR5アンタゴニストおよび／またはアゴニスト、または本発明のCCR5アンタゴニストおよび／またはアゴニストと他の薬剤の併用剤を上記の目的で用いるには、通常、全身的または局所的に、経口または非経口の形で投与される。

- 投与量は、年齢、体重、症状、治療効果、投与方法、処理時間等により異なるが、通常、成人一人あたり、1回につき、1 ng から 1000 mg の範囲で、
- 10 数日に1回、3日に1回、2日に1回、1日1回から数回経口投与されるか、または成人一人あたり、1回につき、1 ng から 100 mg の範囲で、数日に1回、3日に1回、2日に1回、1日1回から数回非経口投与（好ましくは、静脈内投与）されるか、または1日1時間から24時間の範囲で静脈内に持続投与される。
- 15 もちろん前記したように、投与量は種々の条件や病態により変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、また範囲を越えて投与の必要な場合もある。

- 本発明のCCR5アンタゴニストおよび／またはアゴニストまたは本発明のCCR5アンタゴニストおよび／またはアゴニストと他の薬剤の併用剤を
- 20 投与する際には、経口投与のための内服用固形剤、内服用液剤、および非経口投与のための注射剤、外用剤、坐剤、点眼剤、吸入剤等として用いられる。

- 経口投与のための内服用固形剤には、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等が含まれる。カプセル剤には、ハードカプセルおよびソフトカプセルが含まれる。また錠剤には舌下錠、口腔内貼付錠、口腔内速崩壊錠などが含
- 25 まれる。

このような内服用固形剤においては、ひとつまたはそれ以上の活性物質は

そのままか、または賦形剤（ラクトース、マンニトール、グルコース、微結晶セルロース、デンプン等）、結合剤（ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム等）、崩壊剤（繊維素グリコール酸カルシウム等）、滑沢剤（ステアリン酸マグネシウム等）、安定剤、溶解補助剤（グルタミン酸、アスパラギン酸等）等と混合され、常法に従って製剤化して用いられる。また、必要によりコーティング剤（白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等）で被覆していてもよいし、また2以上の層で被覆していてもよい。さらにゼラチンのような吸収されうる物質のカプセルも包含される。

舌下錠は公知の方法に準じて製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質に賦形剤（ラクトース、マンニトール、グルコース、微結晶セルロース、コロイダルシリカ、デンプン等）、結合剤（ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム等）、崩壊剤（デンプン、L-ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、クロスカルメロースナトリウム、繊維素グリコール酸カルシウム等）、滑沢剤（ステアリン酸マグネシウム等）、膨潤剤（ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カーボポール、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルアルコール、キサンタンガム、グアーガム等）、膨潤補助剤（グルコース、フルクトース、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、マルトース、トレハロース、リン酸塩、クエン酸塩、ケイ酸塩、グリシン、グルタミン酸、アルギニン等）安定剤、溶解補助剤（ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、グルタミン酸、アスパラギン酸等）、香味料（オレンジ、ストロベリー、ミント、レモン、バニラ等）等と混合され、常法に従って製剤化して用いられる。また、必要によりコーティング剤（白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒ

ドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等)で被覆していてもよいし、また2以上の層で被覆していてもよい。また、必要に応じて常用される防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤等の添加物を加えることもできる。

- 口腔内貼付錠は公知の方法に準じて製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質に賦形剤(ラクトース、マンニトール、グルコース、微結晶セルロース、コロイダルシリカ、デンプン等)、結合剤(ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム等)、崩壊剤(デンプン、 β -ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、クロスカルメロースナトリウム、繊維素グリコール酸カルシウム等)、滑沢剤(ステアリン酸マグネシウム等)、付着剤(ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カーボポール、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルアルコール、キサンタンガム、グアーガム等)、付着補助剤(グルコース、フルクトース、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、マルトース、トレハロース、リン酸塩、クエン酸塩、ケイ酸塩、グリシン、グルタミン酸、アルギニン等)安定剤、溶解補助剤(ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、グルタミン酸、アスパラギン酸等)、香味料(オレンジ、ストロベリー、ミント、レモン、バニラ等)等と混合され、常法に従って製剤化して用いられる。また、必要によりコーティング剤(白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等)で被覆していてもよいし、また2以上の層で被覆していてもよい。また、必要に応じて常用される防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤等の添加物を加えることもできる。

- 口腔内速崩壊錠は公知の方法に準じて製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質をそのまま、あるいは原末もしくは造粒原末粒子に適当なコーティング剤(エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アクリル酸メタクリル酸コポリマー等)、

可塑剤（ポリエチレングリコール、クエン酸トリエチル等）を用いて被覆を施した活性物質に賦形剤（ラクトース、マンニトール、グルコース、微結晶セルロース、コロイダルシリカ、デンプン等）、結合剤（ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム等）、崩壊剤（デンプン、 β -ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、クロスカルメロースナトリウム、繊維素グリコール酸カルシウム等）、滑沢剤（ステアリン酸マグネシウム等）、分散補助剤（グルコース、フルクトース、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、マルトース、トレハロース、リン酸塩、クエン酸塩、ケイ酸塩、グリシン、グルタミン酸、アルギニン等）安定剤、溶解補助剤（ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、グルタミン酸、アスパラギン酸等）、香味料（オレンジ、ストロベリー、ミント、レモン、バニラ等）等と混合され、常法に従って製剤化して用いられる。また、必要によりコーティング剤（白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、スフタレート等）で被覆していてもよいし、また2以上の層で被覆していてもよい。また、必要に応じて常用される防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤等の添加物を加えることもできる。

経口投与のための内服用液剤は、薬剂的に許容される水剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含む。このような液剤においては、ひとつまたはそれ以上の活性物質が、一般的に用いられる希釈剤（精製水、エタノールまたはそれらの混液等）に溶解、懸濁または乳化される。さらにこの液剤は、湿潤剤、懸濁化剤、乳化剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、保存剤、緩衝剤等を含含有していてもよい。

非経口投与のための外用剤の剤形には、例えば、軟膏剤、ゲル剤、クリーム剤、湿布剤、貼付剤、リニメント剤、噴霧剤、吸入剤、スプレー剤、エアゾル剤、点眼剤、および点鼻剤等が含まれる。これらはひとつまたはそれ以

上の活性物質を含み、公知の方法または通常使用されている処方により製造される。

- 軟膏剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に研和、または溶解させて調製される。
- 5 軟膏基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、高級脂肪酸または高級脂肪酸エステル（アジピン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、アジピン酸エステル、ミリスチン酸エステル、パルミチン酸エステル、ステアリン酸エステル、オレイン酸エステル等）、ロウ類（ミツロウ、鯨ロウ、セレシン等）、界面活性剤（ポリオキシエチレンアルキルエーテルリン酸エステル等）、
- 10 高級アルコール（セタノール、ステアリルアルコール、セトステアリルアルコール等）、シリコン油（ジメチルポリシロキサン等）、炭化水素類（親水ワセリン、白色ワセリン、精製ラノリン、流動パラフィン等）、グリコール類（エチレングリコール、ジエチレングリコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、マクロゴール等）、
- 15 植物油（ヒマシ油、オリーブ油、ごま油、テレピン油等）、動物油（ミンク油、卵黄油、スクワラン、スクワレン等）、水、吸収促進剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保湿剤、保存剤、安定化剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでもよい。
- 20 ゲル剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶解させて調製される。ゲル基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、低級アルコール（エタノール、イソプロピルアルコール等）、ゲル化剤（カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、エチルセルロース等）、
- 25 中和剤（トリエタノールアミン、ジイソプロパノールアミン等）、界面活性剤（モノステアリン酸ポリエチレングリコー

ル等)、ガム類、水、吸収促進剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでいてもよい。

- クリーム剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、
- 5 ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶解または乳化させて調製される。クリーム基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、高級脂肪酸エステル、低級アルコール、炭化水素類、多価アルコール(プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール等)、高級アルコール(2-ヘキシルデカノール、セタノール等)、乳化剤(ポリオキシエチ
- 10 レンアルキルエーテル類、脂肪酸エステル類等)、水、吸収促進剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでいてもよい。

- 湿布剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶解させ、練合物とし支持体上に
- 15 展延塗布して製造される。湿布基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、増粘剤(ポリアクリル酸、ポリビニルピロリドン、アラビアゴム、デンプン、ゼラチン、メチルセルロース等)、湿潤剤(尿素、グリセリン、プロピレングリコール等)、充填剤(カオリン、酸化亜鉛、タルク、カルシウム、マグネシウム等)、水、溶解補助剤、粘着付与剤、かぶ
- 20 れ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでいてもよい。

- 貼付剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶解させ、支持体上に展延塗布して製造される。貼付剤用基剤は公知あるいは通常使用されているものから選
- 25 ばれる。例えば、高分子基剤、油脂、高級脂肪酸、粘着付与剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保

存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでいてもよい。

リニメント剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物を水、アルコール（エタノール、ポリエチレングリコール等）、高級脂肪酸、グリセリン、セッケン、乳化剤、懸濁化剤等から選ばれるもの単独または２種以上に溶解、懸濁または乳化させて調製される。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでいてもよい。

噴霧剤、吸入剤、およびスプレー剤は、一般的に用いられる希釈剤以外に亜硫酸水素ナトリウムのような安定剤と等張性を与えるような緩衝剤、例えば塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウムあるいはクエン酸のような等張剤を含有していてもよい。スプレー剤の製造方法は、例えば米国特許第 2,868,691 号および同第 3,095,355 号に詳しく記載されている。

非経口投与のための注射剤としては、溶液、懸濁液、乳濁液および用時溶剤に溶解または懸濁して用いる固形の注射剤を包含する。注射剤は、ひとつまたはそれ以上の活性物質を溶剤に溶解、懸濁または乳化させて用いられる。溶剤として、例えば注射用蒸留水、生理食塩水、植物油、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、エタノールのようなアルコール類等およびそれらの組み合わせが用いられる。さらにこの注射剤は、安定剤、溶解補助剤（グルタミン酸、アスパラギン酸、ポリソルベート 80（登録商標）等）、懸濁化剤、乳化剤、無痛化剤、緩衝剤、保存剤等を含んでいてもよい。これらは最終工程において滅菌するか無菌操作法によって調製される。また無菌の固形剤、例えば凍結乾燥品を製造し、その使用前に無菌化または無菌の注射用蒸留水または他の溶剤に溶解して使用することもできる。

非経口投与のための点眼剤には、点眼液、懸濁型点眼液、乳濁型点眼液、用時溶解型点眼液および眼軟膏が含まれる。

これらの点眼剤は公知の方法に準じて製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を溶剤に溶解、懸濁または乳化させて用いられる。点眼

剤の溶剤としては、例えば、滅菌精製水、生理食塩水、その他の水性溶剤または注射用非水性用剤（例えば、植物油等）等およびそれらの組み合わせが用いられる。点眼剤は、等張化剤（塩化ナトリウム、濃グリセリン等）、緩衝化剤（リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等）、界面活性化剤（ポリソルベート 80（商品名）、ステアリン酸ポリオキシシル 40、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等）、安定化剤（クエン酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム等）、防腐剤（塩化ベンザルコニウム、パラベン等）等などを必要に応じて適宜選択して含んでいてもよい。これらは最終工程において滅菌するか、無菌操作法によって調製される。また無菌の固形剤、例えば凍結乾燥品を製造し、その使用前に無菌化または無菌の滅菌精製水または他の溶剤に溶解して使用することもできる。

非経口投与のための吸入剤としては、エアロゾル剤、吸入用粉末剤又は吸入用液剤が含まれ、当該吸入用液剤は用時に水又は他の適当な媒体に溶解又は懸濁させて使用する形態であってもよい。

これらの吸入剤は公知の方法に準じて製造される。

例えば、吸入用液剤の場合には、防腐剤（塩化ベンザルコニウム、パラベン等）、着色剤、緩衝化剤（リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等）、等張化剤（塩化ナトリウム、濃グリセリン等）、増粘剤（カリボキシビニルポリマー等）、吸収促進剤などを必要に応じて適宜選択して調製される。

吸入用粉末剤の場合には、滑沢剤（ステアリン酸およびその塩等）、結合剤（デンプン、デキストリン等）、賦形剤（乳糖、セルロース等）、着色剤、防腐剤（塩化ベンザルコニウム、パラベン等）、吸収促進剤などを必要に応じて適宜選択して調製される。

吸入用液剤を投与する際には通常噴霧器（アトマイザー、ネブライザー）が使用され、吸入用粉末剤を投与する際には通常粉末薬剤用吸入投与器が使用される。

非経口投与のためその他の組成物としては、ひとつまたはそれ以上の活性物質を含み、常法により処方される直腸内投与のための坐剤および腔内投与のためのペッサリー等が含まれる。

- 本発明のCCR5アンタゴニストおよび／またはアゴニストは、他の薬剤、
- 5 例えば、HIV感染の予防および／または治療剤（特に、AIDSの予防および／または治療剤）と組み合わせて用いてもよい。この場合、これらの薬物は、別々にあるいは同時に、薬理的に許容されうる賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、溶解補助剤、希釈剤等と混合して製剤化し、HIV感染の予防および／または治療のための医薬組成物として経口的にまたは非
- 10 経口的に投与することができる。

- 本発明のCCR5アンタゴニストおよび／またはアゴニストは、他のHIV感染の予防および／または治療剤（特に、AIDSの予防および／または治療剤）に対して耐性を獲得したHIV-1に対して感染阻害作用を有する。従って、他のHIV感染の予防および／または治療剤が効果を示さなくなったHIV感染者に対しても用いることができる。この場合、本発明化合物を
- 15 単剤で用いても良いが、感染しているHIV-1株が耐性を獲得したHIV感染の予防および／または治療剤またはそれ以外の薬剤と併用して用いても良い。

- 本発明には、のCCR5アンタゴニストまたはアゴニストとHIV感染を
- 20 阻害しない薬物を組み合わせてなり、単剤よりもHIV感染の予防および／または治療効果が増強された薬剤組成物をも含む。

- 本発明のCCR5アンタゴニストおよび／またはアゴニストと組み合わせて用いられる他のHIV感染の予防および／または治療剤の例としては、逆転写酵素阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、ケモカイン拮抗剤（例えば、CCR
- 25 2拮抗剤、CCR3拮抗剤、CCR4拮抗剤、CCR5拮抗剤、CXCR4拮抗剤等）、フュージョン阻害剤、HIV-1の表面抗原に対する抗体、H

I V-1 のワクチン等が挙げられる。

逆転写酵素阻害剤としては、具体的には、(1) 核酸系逆転写酵素阻害剤のジドブジン (商品名: レトロビル)、ジダノシン (商品名: ヴァイデックス)、ザルシタビン (商品名: ハイビッド)、スタブジン (商品名: ゼリット)、ラミブジン (商品名: エピビル)、アバカビル (商品名: ザイアジェン)、アデフォビル、ジピボキシル、エントリシタビン (商品名: コビラシル)、PMPA (商品名: テノフォヴィル) 等、(2) 非核酸系逆転写酵素阻害剤のネビラピン (商品名: ビラミューン)、デラビルジン (商品名: レスクリプター)、エファビレンツ (商品名: サスティバ、ストックリン)、カブラヴィリン (AG1549) 等が挙げられる。

プロテアーゼ阻害剤としては、具体的には、インジナビル (商品名: クリキシバン)、リトナビル (商品名: ノービア)、ネルフィナビル (商品名: ビラセプト)、サキナビル (商品名: インビラーゼ、フォートベース)、アンプリナビル (商品名: エジネラーゼ)、ロピナビル (商品名: カレトラ)、ティプラナビル等が挙げられる。

ケモカイン拮抗剤としては、ケモカインレセプターの内因性のリガンド、またはその誘導体および非ペプチド性低分子化合物、またはケモカインレセプターに対する抗体が含まれる。

ケモカインレセプターの内因性のリガンドとしては、具体的には、MIP-1 α 、MIP-1 β 、RANTES、SDF-1 α 、SDF-1 β 、MCP-1、MCP-2、MCP-4、エオタキシン (Eotaxin)、MDC等が挙げられる。

内因性リガンドの誘導体としては、具体的には、AOP-RANTES、Met-SDF-1 α 、Met-SDF-1 β 等が挙げられる。

ケモカインレセプターの抗体としては、具体的には、Pro-140等が挙げられる。

C C R 2拮抗剤としては、具体的には、WO99/07351号、WO99/40913号、WO00/46195号、WO00/46196号、WO00/46197号、WO00/46198号、WO00/46199号、WO00/69432号、WO00/69815号またはBioorg. Med. Chem. Lett., 10, 1803 (2000)に記載された化合物等が挙げられる。

- 5 C C R 3拮抗剤としては、具体的には、DE19837386号、WO99/55324号、WO99/55330号、WO00/04003号、WO00/27800号、WO00/27835号、WO00/27843号、WO00/29377号、WO00/31032号、WO00/31033号、WO00/34278号、WO00/35449号、WO00/35451号、WO00/35452号、WO00/35453号、WO00/35454号、WO00/35876号、WO00/35877号、WO00/41685号、WO00/51607号、
10 WO00/51608号、WO00/51609号、WO00/51610号、WO00/53172号、WO00/53600号、WO00/58305号、WO00/59497号、WO00/59498号、WO00/59502号、WO00/59503号、WO00/62814号、WO00/73327号またはWO01/09088号に記載された化合物等が挙げられる。

- C C R 5拮抗剤としては、具体的には、WO99/17773号、WO99/32100号、
15 WO00/06085号、WO00/06146号、WO00/10965号、WO00/06153号、WO00/21916号、WO00/37455号、EP1013276号、WO00/38680号、WO00/39125号、WO00/40239号、WO00/42045号、WO00/53175号、WO00/42852号、WO00/66551号、WO00/66558号、WO00/66559号、WO00/66141号、WO00/68203号、JP2000309598号、WO00/51607号、WO00/51608号、WO00/51609号、WO00/51610号、
20 WO00/56729号、WO00/59497号、WO00/59498号、WO00/59502号、WO00/59503号、WO00/76933号、WO98/25605号、WO99/04794号、WO99/38514号またはBioorg. Med. Chem. Lett., 10, 1803 (2000)に記載された化合物等が挙げられる。

C X C R 4拮抗剤としては、具体的には、AMD-3100、T-22、KRH-1120 およびWO00/66112号に記載された化合物等が挙げられる。

- 25 フュージョン阻害剤としては、具体的には、T-20 (pentafuside)、T-1249等が挙げられる。

以上の併用薬剤は例示であって、本発明はこれらに限定されるものではない。

代表的な逆転写酵素阻害剤およびプロテアーゼ阻害剤の通常の臨床投与量は、特に限定されないが、例えば、以下に示すとおりである。

- 5 ジドブジン：100mgカプセル、1回200mg、1日3回；
300mg錠剤、1回300mg、1日2回；
ジダノシン：25～200mg錠剤、1回125～200mg、1日2回；
ザルシタピン：0.375mg～0.75mg錠剤、1回0.75mg、1日3回；
スタブジン：15～40mgカプセル、1回30～40mg、1日2回；
- 10 ラミブジン：150mg錠剤、1回150mg、1日2回；
アバカビル：300mg錠剤、1回300mg、1日2回；
ネビラピン：200mg錠剤、1回200mg、14日間1日1回、その後1日2回；
デラビルジン：100mg錠剤、1回400mg、1日3回；
- 15 エファビレンツ：50～200mgカプセル、1回600mg、1日1回；
インジナビル：200～400mgカプセル、1回800mg、1日3回；
リトナビル：100mgカプセル、1回600mg、1日2回；
ネルフィナビル：250mg錠剤、1回750mg、1日3回；
サキナビル：200mgカプセル、1回1,200mg、1日3回；
- 20 アンブレナビル：50～150mg錠剤、1回1,200mg、1日2回。

図面の簡単な説明

図1は、抗hCCR5抗体のhCCR5結合に対する被験化合物の阻害作用（実施例2）を示す。

- 25 図2は、化合物1のマウス生体内におけるhCCR5結合持続性（実施例5）を示す。

発明を実施するための最良の形態

以下、実施例によって本発明を詳述するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

5

実施例 1 : きびしい洗浄条件下での CCR5 に対するリガンド結合阻害実験

ヒト CCR5 発現細胞 (hCCR5-CHO 細胞) を培養プレートに播種し、培地 (Ham's F-12 medium / 10% FBS / Antibiotic-Antimycotic) で 1 日間 (または 2 日間) 37℃、5% CO₂ の CO₂ インキュベーターで培養して実験に用
 10 いた。各ウェル (well) の培地を除去し、細胞をアッセイバッファー (Ham's F-12 medium / 0.5% BSA / 20 mmol / L HEPES) で洗浄し、アッセイバッ
 ファーを各ウェル (well) に添加した。各濃度の被験化合物を添加し、室温で 40 分間インキュベーションした後、PBS (1 mL / well) で細胞を 8 回洗
 15 浄した。さらにアッセイバッファーを加え、37℃で 4 時間インキュベ
 ションした。4 時間後、アッセイバッファーを除き、放射性標識リガンドを加えた。細胞を含む培養混合物を室温で 40 分間インキュベーションした後、
 氷冷した PBS 1 mL / well で 3 回洗浄した、1 mol / L 水酸化ナトリウ
 ム水溶液で細胞を溶解し、細胞溶解液の放射活性を γ カウンターで測定した。

その結果、SCH-351125 および TAK-779 はそれぞれ IC₅₀ 値 16.7 および 10.4
 20 nmol / L を示した。(3R)-1-ブチル-2,5-ジオキソ-3-((1R)-1-ヒドロキシ-1-シクロヘキシルメチル)-9-(4-(4-カル
 ボキシフェニルオキシ)フェニルメチル)-1,4,9-トリアザスピロ
 [5.5]ウンデカン・塩酸塩 (化合物 1) および (3R)-1-ブチル-
 2,5-ジオキソ-3-((1R)-1-ヒドロキシ-1-シクロヘキシル
 25 メチル)-9-(4-(4-メチルアミノカルボニルフェニルオキシ)フェ
 ニルメチル)-1,4,9-トリアザスピロ [5.5]ウンデカン・塩酸塩

(化合物 2) はそれぞれ IC_{50} 値 4.2 および 1.5 nmol/L を示した。化合物 1 及び化合物 2 は SCH-351125 および TAK-779 に比べて、化合物 1 の場合それぞれ約 4 倍及び約 2.5 倍、化合物 2 の場合それぞれ約 1.1 倍および約 7 倍の強力な阻害活性を示すことが確認された。

5

実施例 2 : 抗 hCCR5 抗体結合阻害実験

- ヒト CCR5 発現細胞 (hCCR5-CHO 細胞) を培養フラスコに播種し、培地 (Ham's F-12 medium / 10% FBS / Antibiotic-Antimycotic) を用い、 37°C 、5% CO_2 の CO_2 インキュベーター内で 2~3 日間培養し実験に用いた。培養
- 10 培養フラスコから培地を除去したのち、 1 mmol/L EDTA / PBS を加え、プレートから剥離させ回収した。回収した細胞を PBS で 1 回洗浄後、PBS で再懸濁して細胞数を計測した。遠心し上清を吸引除去した後、アッセイバッファー (0.5% FBS / Ham's F-12 medium) で懸濁した。細胞懸濁液に被験化合物を加え、氷上にてインキュベーションした。さらに FITC
- 15 標識抗 hCCR5 抗体 (45531.111 あるいは 45523.111) または FITC 標識イソタイプコントロール抗体を添加し、氷上、遮光下にて反応させた。反応後、氷冷した PBS で 2 回洗浄し、氷冷した FACS バッファー (2% FBS / PBS) に細胞を再懸濁して結合した抗 hCCR5 抗体の量 (蛍光強度) をフローサイトメーター (BECTON DICKINSON) にて測定した。
- 20 その結果、抗 hCCR5 抗体 (45531.111 および 45523.111) 結合に対して、化合物 1、化合物 2、SCH-351125 および TAK-779 の阻害効果を検討した。それぞれの化合物を $10 \text{ } \mu\text{mol/L}$ 添加しアッセイを行ない、フローサイトメーターの結果をヒストグラムで表示した結果を図 1 に示す。hCCR5 発現細胞への抗 hCCR5 抗体 45531.111 の結合に対して、化合物 1 および化合物 2 は強い阻害作用を示したが、SCH-351125 および TAK-779 による阻害は弱かった。
- 25 また、化合物 1、化合物 2 および SCH-351125 は 45523.111 の結合を強く阻害

するのに対して、TAK-779 は弱い阻害を示した。以上の結果より、両方の抗体の hCCR5 結合に対する阻害活性は化合物 1 = 化合物 2 > SCH-351125 > TAK-779 の順で強いことを見出した。

5 実施例 3 : トリチウム化した化合物 1 の hCCR5 結合に対する SCH-351125 および TAK-779 の阻害作用

ヒト CCR5 発現細胞 (hCCR5-CHO 細胞) を培養プレートに播種し、培地 (Ham's F-12 medium / 10% FBS / Antibiotic-Antimycotic) で 1 日間 37℃、5% CO₂ の CO₂ インキュベーターで培養して実験に用いた。各ウェル (well)
10 の培地を除去し、細胞をアッセイバッファー (Ham's F-12 medium / 0.5% BSA / 20 mmol / L HEPES) で洗浄し、アッセイバッファーを添加した。各濃度の SCH-351125 または TAK-779 を添加し、3 用量のトリチウム化した化合物 1 溶液を加えた。室温で 2 時間インキュベーションした後、1 mL / well の氷冷した D-PBS で細胞を洗浄した。1 mol / L NaOH で細胞
15 を溶解し、中和させた後、シンチレータ (ACS II, Amersham) を加えた。各バイアルの放射能を液体シンチレーションカウンター (TRI-CARB 2900TR, Perkin Elmer Life Sciences) で測定した。

トリチウム化した化合物 1 のそれぞれの濃度における SCH-351125 および TAK-779 の濃度-置換曲線を作成し、作用様式を検討した。その結果、トリ
20 チウム化した化合物 1 の hCCR5 結合に対して、SCH-351125 および TAK-779 はいずれも濃度を増加させると完全な阻害を示し、トリチウム化した化合物 1 の濃度の増加にともない置換曲線は高濃度側に平行移動した。この結果から化合物 1 は SCH-351125 および TAK-779 と競合的に拮抗し、化合物 1 は SCH-351125、TAK-779 と全く異なった部位ではなく、一部重なるような領域
25 を認識していることが確認された。

実施例 4 : 細胞遊走に対する阻害作用

ヒトCCR5発現細胞(hCCR5-Ba/F3細胞)を用い、MIP-1 α に対する遊走実験を行なった。まず、24穴トランスウェルプレートの下室(transwell bottom)にMIP-1 α 含有培地0.5mLを加えた。次に、24穴トランスウェル
5 プレートの上室(transwell insert)に2倍濃度の被検化合物の化合物1、SCH-351125またはTAK-779を50 μ Lずつ加えた。続いて、hCCR5-Ba/F3細胞50 μ Lをトランスウェルの上室に加えた。トランスウェルプレートの上室ウェルをケモカインの入った下室のウェル上に移動させて遊走を開始させた。これらの細胞をCO₂インキュベーター(37 $^{\circ}$ C、5%CO₂、湿度95%)
10 内で3時間培養した後、トランスウェルインサートの下部を0.5mLの洗浄バッファー(PBS、0.1% FBS、2mmol/L EDTA)を用いて下室に洗いこんだ。細胞数の測定は、フローサイトメーター(BECTON DICKINSON)を用いて行ない、ゲート(FSC \times SSC)内の細胞数をカウントした。遊走した細胞数は最初に添加した細胞をFACS解析したときのカウントに対する割合
15 (%)とし、さらに、DMSOコントロール群に対する阻害活性からIC₅₀値を算出した。

その結果、化合物1、SCH-351125およびTAK-779はMIP-1 α によるhCCR5-Ba/F3細胞の遊走を阻害し、それぞれのIC₅₀値は4.3、21.0、55.0 nmol/Lであった。

20 化合物1、SCH-351125およびTAK-779はMIP-1 α のhCCR5への結合を阻害することによって細胞遊走機能を阻害した。機能的アッセイの阻害の強弱は化合物1>SCH-351125>TAK-779の順序であった。

実施例 5 : マウス生体内におけるhCCR5結合持続性

25 ヒトCCR5発現細胞(hCCR5-Ba/F3細胞)を0.1%BSA/PBSに懸濁してカルボキシフルオレセインジアセテートスクシニミジルエステル

(CFSE, 終濃度 $1 \mu\text{mol/L}$) を添加し、 37°C 、遮光下でインキュベーションした。0.1% BSA/PBS で細胞を 2 回洗浄後、0.5% BSA/Ham's F-12 medium に懸濁した。化合物 1 を充分量添加し、 37°C 、遮光下でインキュベーションし、化合物 1 を hCCR5 に結合させた。ビヒクル (Vehicle) 群は 5 0.1% DMSO のみで同様の操作を行なった。フリーの化合物 1 を除去するため PBS で細胞を 2 回洗浄し、PBS で懸濁した。この細胞懸濁液を Balb/c マウスの尾静脈内に移入し、細胞移入後数時間 (例えば 0、0.5、1.5、3、5 時間) 後にエーテル麻酔下で腹部大静脈から採血および脾臓を摘出した。末梢血は Lymphocyte-M を用いて遠心分離して PBMC を調製し、脾臓は潰して溶 10 血処理後洗浄して細胞を得た。調製した細胞を PE 標識抗 hCCR5 抗体 (2D7 及び 45531.111) にて染色した。フローサイトメーターにて CFSE 陽性 hCCR5-Ba/F3 細胞を検出し、その細胞に結合した PE 標識抗 hCCR5 抗体の蛍光強度 (Mean 値) を測定した占有率を以下の式により算出した。

15 $\Delta\text{mean 値} = (\text{対象試料の 45531.111 結合時の蛍光強度 mean 値}) - (\text{アイソタイプコントロール用のマウスから回収した細胞を PE 標識アイソタイプコントロールで染色したものの蛍光強度 mean 値})$

補正值 = (対象試料の 45531.111 結合時の蛍光強度 $\Delta\text{mean 値}$) / (対象試料 20 の 2D7 結合時の蛍光強度 $\Delta\text{mean 値}$)

受容体占有率 (R) = $\{1 - ((\text{対象試料の補正值}) / (\text{Vehicle の補正值の平均値}))\} \times 100$

25 補正受容体占有率 = $\{ \text{受容体占有率 (R)} / (\text{0 時間の Vehicle の受容体占有率 (R) の平均値}) \} \times 100$

化合物 1 のマウス生体内における hCCR5 結合持続性を検討した。図 2 に細胞移入後 0、0.5、1.5、3、5 時間における化合物 1 の hCCR5 占有率 (%) を示した。化合物 1 はマウス生体内において hCCR5 に長時間結合し、細胞移入後 5 時間においても 61% の hCCR5 占有率を示すことが確認された。この経時変化から半減期は 12 時間であり、循環血中に化合物が存在しない場合も、長時間に渡って hCCR5 上に化合物 1 が残存することが確認された。

実施例 6：化合物投与後のマウス生体内における hCCR5 結合持続性

10 化合物 1 を 3 または 30 mg/kg で腹腔内に投与し、その 15 分後に CFSE ラベルされた hCCR5/BaF3 細胞を Balb/c マウスに尾静脈内に移入して、細胞移入後数時間 (0、0.5、4、8 時間) 後にエーテル麻酔下で腹部大静脈から採血および脾臓を摘出した。末梢血は Lymphocyte-M を用いて遠心分離して PBMC を調製し、脾臓は潰して溶血処理後洗浄して細胞を得た。調製した細胞を PE 標識抗 hCCR5 抗体 (45531.111) にて染色した。フローサイトメーターにて CFSE 陽性 hCCR5-Ba/F3 細胞を検出し、その細胞に結合した PE 標識抗 hCCR5 抗体 (2D7 及び 45531.111) の蛍光強度 (Mean 値) を測定した。

占有率は以下の式により算出した。

20 $\Delta \text{mean 値} = (\text{対象試料の 45531.111 結合時の蛍光強度 mean 値}) - (\text{アイソタイプコントロール用のマウスから回収した細胞を PE 標識アイソタイプコントロールで染色したものの蛍光強度 mean 値})$

補正值 = (対象試料の 45531.111 結合時の蛍光強度 $\Delta \text{mean 値}$) / (対象試料の 2D7 に対する蛍光強度 $\Delta \text{mean 値}$)

受容体占有率 (R) = { 1 - ((対象試料の補正值) / (Vehicle の補正值の
5 平均値)) } × 100

その結果、末梢血における化合物 1 の hCCR5 占有率は移入後 0.5、4、8
5 時間で 30 mg/kg ではそれぞれ 96%、85%、70%、3 mg/kg
ではそれぞれ 93%、68%、54%であることが確認された。また、脾臓
においても 30 mg/kg の 0.5、4、8 時間でそれぞれ 96%、69%、5
4%、3 mg/kg の 0.5、4、8 時間でそれぞれ 92%、55%、32%の
hCCR5 が化合物 1 により占有されていることが明らかとなった。本実験にお
10 ける化合物 1 血漿中濃度は 30 mg/kg の 0.5、4、8 時間でそれぞれ 1612、
22、4 nmol/L、3 mg/kg の 0.5、4、8 時間でそれぞれ 352、
5、1 nmol/L であった。これらの血漿中濃度から推定される hCCR5 占
有率をインビトロ (in vitro) のマウス血漿中抗体阻害実験をもとに求めたところ、
30 mg/kg の 0.5、4、8 時間ではそれぞれ約 100%、52%、1
15 3%、3 mg/kg の 0.5、4、8 時間ではそれぞれ 100%、16%、3%
であることが判明した。このことから、化合物 1 は生体内において hCCR5 に
結合し、その結合は血漿中濃度から推定される占有率よりも高く維持される
ことが明らかとなった。

以上の結果より、化合物 1 は生体内において結合持続性を示すことが確認
20 された。このように循環血中でも長時間 hCCR5 に結合し続ける化合物、すな
わち、強結合部位に結合する化合物は作用が持続するため、経口的、非経口
的に投与することによって薬理効果を持続することが明らかであり、薬剤の
投与回数を減らせるメリットがある。

25 実施例 7 : ヒト PBMC への HIV-1 感染の阻害作用

ヒト PBMC (末梢血単核細胞) は HIV 陰性の健常人から Ficoll-Hipaque

密度勾配遠心で単離し、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ のPHA (Phytohemagglutinin) 存在下で3日間培養した。PHA刺激PBMCを10%血清を含むRPMI1640に懸濁し、96ウェルマイクロプレートにまきこんだ。さらに各種濃度のCCR5アンタゴニスト単独共存下で、R5-HIV-1株(例えばHIV-1_{BAL}等)を
 5 暴露した。7日間培養した後、培養上清中のHIV-1p24抗原の量をLumipulse F (富士レビオ)を用いたEIA法により測定した。

実施例8：CCR5アゴニストまたはアンタゴニストの判定法

(8-1)：ヒトCCR5発現細胞の樹立

10 <8-1-A>：ヒトCCR5遺伝子の単離

ヒト胎盤cDNAは、Marathon cDNA amplification kit (Clontech)を用いて作製した。PCRプライマーであるhCCR5XbaI-F1：5'-AGCTAGTCTAGATCCGTTCCCCTACAAGAACTCTCC-3' (配列番号1)およびhCCR5XbaI-R1：5'-AGCTAGTCTAGAGTGCA
 15 ACAACTCTGACTGGGTCACCA-3' (配列番号2)は、GenBank U54994の配列に基き設計した。

ヒト胎盤cDNAを鋳型として、Ex Taq (Takara)を用いて、PCR反応(95℃で2分→[95℃で30秒、60℃で45秒、72℃で1分]×35回)を行なった。増幅したPCR産物を、1%アガロースゲル電気泳動後、
 20 QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN)を用いて精製し、制限酵素XbaIで切断した。切断した断片を、発現ベクターpEF-BOS-bsrにDNA Ligation Kit Ver.2 (Takara)を用いて連結し、大腸菌DH5αに形質転換した。このプラスミドpEF-BOS-bsr/hCCR5を調製し、DNA配列を確認した。

<8-1-B>：CHO細胞の培養

25 CHO-dhfr(-)は、Ham's F-12 (ウシ胎児血清(10%)、ペニシリン(50U/ml)、ストレプトマイシン(50mg/ml)含有)を用いて炭酸ガス

インキュベーター（温度：37℃、CO₂濃度：5%、湿度：95%）内で培養した。また、形質導入した細胞は、上記にプラスタサイジン（5 μg/ml）を添加し、培養した。

<8-1-C>：CHO細胞への形質導入

- 5 DMRIE-C reagent (Gibco BRL) を用いて、プラスミド pEF-BOS-bsr/hCCR5 を CHO-dhfr(-)細胞に形質導入した。48時間後、5 μg/ml のプラスタサイジンを含む培地に交換して選択を行ない、安定過剰発現細胞を樹立した。

<8-1-D>：CCR5発現解析

- 前記<8-1-C>に記載の方法によって得られたクローンにおけるヒト
10 CCR5発現強度を、細胞をフルオレセインイソチオシアネート (fluorescein isothiocyanate) (FITC) 標識抗ヒトCCR5抗体 (BD Pharmingen) によって検出し、FACS sort (登録商標、ベクトン・ディッキンソン社製) を用いて測定し、解析を行なった。なお、アイソタイプコントロール抗体として、FITC標識マウスIgG2aκ (BD Pharmingen) を使用した。

- 15 (8-2)：CCR5を介した細胞内Ca濃度の上昇のモニター

<8-2-A>：CCR5アゴニストによる細胞内Ca濃度の上昇効果及び内因性リガンドによる細胞内Ca濃度の上昇に対するCCR5アンタゴニストによる阻害効果

- 前記(8-1)で作製したヒトCCR5安定発現CHO細胞を 3.5×10^4
20 cells/100 μl/ウェルで播種した。翌日、培地を80 μl/ウェルのアッセイバッファー (Fura-2AM (5 μM)、Probenecid (2.5mM)、HEPES (20mM pH7.4) 含有 Ham's F-12) に置き換えて1時間37℃で培養した後、100 μlの洗浄バッファー (Hanks (9.8mg/ml)、HEPES (20mM)、probenecide (2.5mM) 含有) で2回洗い、更に100 μlの洗浄
25 バッファーを加え30分室温静置した。化合物 (各々0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30 μM) を加え、3分後に MIP-1α (最終濃度 30 nM) を添

加した。化合物添加前 30 秒前からモニターを開始し、7 分 30 秒間細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇をモニターした。細胞内 Ca^{2+} 濃度は Fluorescence Drug Screening System4000 (浜松ホトニクス社製) を用いて、励起光 340 nm / 380 nm のシグナル強度を測定した。試験化合物のアゴニスト及びアンタゴニスト活性は、化合物非添加時の MIP-1 α のシグナル強度を 100% として次の式により算出した。

$$\text{アゴニスト活性 (\%)} = (E_a / E_c) \times 100$$

E_c : MIP-1 α 添加時の Ca^{2+} 一過性上昇の測定値

10 E_a : 試験化合物を添加時の Ca^{2+} 一過性上昇の測定値

$$\text{アンタゴニスト活性 (\%)} = \{ (E_c - E_a) / E_c \} \times 100$$

E_c : 試験化合物を含まない Vehicle を添加した後の MIP-1 α 添加時の Ca^{2+} 一過性上昇の測定値

15 E_a : 試験化合物を添加した後の MIP-1 α による Ca^{2+} 一過性上昇の測定値

< 8-2-B > : 内因性リガンドによる CCR5 アゴニストの作用阻害

前記 < 8-2-A > と同様にして、内因性リガンドによる CCR5 アゴニストの作用阻害活性を調べた。CCR5 内因性リガンドである MIP-1 α (30 nM) を加え、3 分後に各アゴニスト (10 μ M) を添加し、MIP-1 α 添加開始前 30 秒から 7 分 30 秒間細胞内 Ca^{2+} 濃度 (シグナル強度) をモニターした。

CCR5 アゴニストは単独で CCR5 の細胞内 Ca^{2+} 濃度 (シグナル強度) を上昇させたが、CCR5 の内因性リガンドである MIP-1 α を予め添加することにより CCR5 の脱感作が起こり、本発明化合物による細胞内 Ca^{2+} 濃度 (シ

グナル強度)の上昇は抑制された。したがって、これらの化合物はCCR5を特異的に活性化することが示された。

実施例9：ヒトCCR5発現細胞(hCCR5-Ba/F3細胞)の遊走試験

5 (9-1)：ヒトCCR5発現細胞の樹立

<9-1-A>：ヒトCCR5遺伝子の単離

前記<8-1-A>ヒトCCR5遺伝子の単離に記載の方法によって行なった。

<9-1-B>：Ba/F3細胞の培養

- 10 Ba/F3細胞は抗生剤(Antibiotic-Antimycotic)(終濃度：ペニシリンGナトリウム(100U/ml)、硫酸ストレプトマイシン(100μg/ml)、アンフォテリシンB(0.25μg/ml))(Gibco BRL)、ウシ胎児血清(FBS)(10%)、インターロイキン3(IL-3)(5ng/ml)(Pepro Tech, Inc)含有RPMI-1640培地(Gibco BRL)を用い、炭酸ガスイン
- 15 キュベーター内(温度：37℃、CO₂濃度：5%、湿度：95%)で静置培養した。外来遺伝子安定過剰発現細胞の培養には上記培地に終濃度10μg/mlになるようにブラストサイジン(Kaken pharmaceutical)を添加した。

<9-1-C>：Ba/F3細胞への形質導入

- ヒトCCR5発現用プラスミド(pEF-BOS-bsr/hCCR5)をAat IIで消化し、
- 20 直鎖化した。直鎖化したプラスミドをQIA quick PCR Purification Kit(QIAGEN)を用いて精製した後、エレクトロポレーション(Gene Pulser(BIO RAD)960μF/250V)によりBa/F3細胞に導入した。細胞は96ウェル培養プレートに1000、100、10cells/100μl/ウェルの密度で播種し、48時間後、終濃度10μg/mlになるようにブラストサイジンを添加し
- 25 て、ブラストサイジン耐性株をクローニングし、導入した外来遺伝子を発現する安定過剰発現クローン(hCCR5-Ba/F3細胞)を樹立した。

< 9-1-D > : CCR5発現解析

前記< 8-1-D >に記載の方法によって行なった。

(9-2) : 細胞遊走試験

- CCR5アゴニストに対するヒトCCR5を発現したBa/F3細胞の遊走能を調べた。まず、24穴トランスウェルプレートの下室に0.01、0.03、0.1、0.3、1 μ Mの試験化合物(0.5ml/ウェル)を加え、上室にhCCR5-Ba/F3細胞(1×10^5 cells/0.05ml/ウェル)を加えた。上室を下室に重ねることで試験を開始し、炭酸ガスインキュベーター(温度: 37℃、CO₂濃度: 5%、湿度: 95%)内で3時間インキュベーションした。また、これらの遊走細胞数を相対評価するために、最初に添加した細胞すべてが遊走した場合のスタンダードサンプル(1×10^5 cells/0.5ml/ウェルのケモカイン含有培地)を調製し、これも同様にインキュベーションした。上室の外側下部を0.5 mLの洗浄バッファー(エチレンジアミン四酢酸ナトリウム(EDTA)(2 mM)、FBS(0.1%)含有リン酸緩衝生理食塩水(PBS))を用いて下室に洗い込み、下室に遊走した細胞をFACSチューブに回収した。スタンダードについても、0.5mlの洗浄バッファーを加えた。スタンダードサンプルおよび下室の細胞数を、FACS_{sort}(登録商標、ベクトン・ディッキンソン社製)を用いて測定し、30秒間のゲート(FSC×SSC)内の細胞数を計数した。
- 各濃度の試験化合物による遊走活性は、以下の式に従って算出し、結果をn = 2の平均値で示した。

$$\text{遊走活性 (\%)} = (B/A) \times 100$$

A : スタンダードサンプルの測定値

25 B : 試験化合物添加サンプルの測定値

請 求 の 範 囲

1. CCR 5 の強結合部位に結合するアンタゴニストまたはアゴニスト (ただし、WO01/40227 号パンフレット、WO02/74769 号パンフレット、WO02/74
5 770 号パンフレットに記載された化合物および SCH-351125 は除く。) 。
2. 請求の範囲 1 記載のアンタゴニストまたはアゴニストを含有すること
を特徴とするアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患
の予防および／または治療剤。
- 10 3. アレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および癌疾患が、喘息、アト
ピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、アレルギー
一性好酸球性胃腸症、腎炎、腎症、肝炎、関節炎、慢性関節リウマチ、乾癬、
鼻炎、結膜炎、虚血再灌流傷害、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、急性呼吸窮
15 迫症候群、細菌感染に伴うショック、糖尿病、自己免疫疾患、移植臓器拒絶
反応、免疫抑制、癌転移、H I V 感染および後天性免疫不全症候群から選択
される疾患である請求の範囲 2 記載の予防および／または治療剤。
4. 免疫疾患が、H I V 感染、後天性免疫不全症候群および／または移植
20 臓器拒絶反応である請求の範囲 2 記載の予防および／または治療剤。
5. CCR 5 の強結合部位に結合する化合物をスクリーニングする方法で
あって、
(a) CCR 5 発現細胞またはその膜画分と被験化合物を接触させる工程、
25 (b) 細胞または膜を 1 ～ 1 2 回洗浄する工程、および
(c) 標識リガンドを加え、結合した標識リガンドの結合量を測定する工程
を含むことを特徴とするスクリーニング方法。

6. 細胞または膜を洗浄する回数が、6～10回である請求の範囲5記載の方法。

5 7. CCR5の強結合部位に結合する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) CCR5発現細胞またはその膜画分と被験化合物を接触させる工程、

(b) 前記(a)工程で調製された被験化合物と結合した細胞またはその膜画分を、標識された抗CCR5抗体と接触させる工程、および

10 (c) CCR5発現細胞またはその膜画分に結合した標識された抗CCR5抗体を測定する工程を含むことを特徴とするスクリーニング方法。

8. 抗CCR5抗体が、45531.111抗体および/または45523.111抗体である請求の範囲7記載の方法。

15

9. CCR5を発現している細胞または膜画分上に結合している化合物の占有率を測定する方法であって、

(a) CCR5発現細胞またはその膜画分と被験化合物を接触させる工程、

(b) 前記(a)工程で調製された被験化合物と結合した細胞またはその膜
20 画分を、標識された抗CCR5抗体と接触させる工程、および

(c) 細胞または膜画分上のCCR5に結合している化合物の占有率を、化合物がCCR5と結合していない場合の抗CCR5抗体の結合量を100%とした際の、化合物がCCR5に結合している場合の抗CCR5抗体の結合量の割合によって算出する工程を含むことを特徴とする測定方法。

25

10. 血中のCCR5を発現している細胞上の結合部位に結合する化合物の占有率を経時的にモニターする方法であって、

- (a) CCR5の結合部位に結合する化合物を哺乳動物に投与した後、血中のCCR5を発現している細胞含む細胞集団を分離する工程、
- (b) 分離された細胞集団を標識された抗CCR5抗体と接触する工程、および
- 5 (c) 分離された細胞上のCCR5の結合部位に結合する化合物の占有率を、化合物がCCR5と結合していない場合の抗CCR5抗体の結合量を100%とした際の、化合物がCCR5に結合している場合の抗CCR5抗体の結合量の割合によって算出する工程を含むことを特徴とするモニター方法。
- 10 11. 抗CCR5抗体が、45531.111 抗体および／または45523.111 抗体である請求の範囲10記載の方法。
12. CCR5の結合部位に結合する化合物を投与した際に有効性を示す投与量と投与回数を決定する方法であって、
- 15 (a) インビトロ (in vitro) 活性測定法によりCCR5の結合部位に結合する化合物の阻害活性 IC_{50} 値または IC_{90} 値を測定する工程、
- (b) 上記 (a) 記載の IC_{50} 値または IC_{90} 値に相当する化合物濃度でのCCR5発現細胞上のCCR5の結合部位に結合する化合物の占有率を請求の範囲9記載の方法により算出する工程、
- 20 (c) 請求の範囲10記載のモニター方法により得られた、各投与量および各モニター時間のCCR5の結合部位に結合する化合物の占有率と上記 (b) 記載の方法により得られた占有率を比較する工程を含むことを特徴とする阻害率がおおよそ50%または90%となる投与量と投与回数を決定する方法。
- 25 13. インビトロ (in vitro) 活性測定法が抗HIV活性測定法である請求の範囲12記載の方法。

14. 請求の範囲5、7、9、10および/または12記載の方法によって選択されたCCR5の強結合部位に結合する化合物を有効成分として含有するアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および/または癌疾患の予防および/または治療剤。

5

15. 免疫疾患が、HIV感染、後天性免疫不全症候群および/または移植臓器拒絶反応である請求の範囲14記載の予防および/または治療剤。

16. 投与方法が、1日1回、2日1回、3日1回または数日1回、経口的または非経口的に投与することを特徴とする請求の範囲2または14記載の予防および/または治療剤。

17. 免疫疾患が、HIV感染、後天性免疫不全症候群および/または移植臓器拒絶反応である請求の範囲16記載の予防および/または治療剤。

15

18. 1日1回、2日1回、3日1回または数日1回、経口的または非経口的に投与することを特徴とするCCR5の強結合部位に結合するアンタゴニストおよび/またはアゴニストをスクリーニングする方法。

19. ケモカイン受容体の強結合部位に結合するアゴニストまたはアンタゴニスト。

20. 請求の範囲19記載のアゴニストまたはアンタゴニストを含有することを特徴とするアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および/または癌疾患の予防および/または治療剤。

25

21. アレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および癌疾患が喘息、アト

- ピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、アレルギー性好酸球性胃腸症、腎炎、腎症、肝炎、関節炎、慢性関節リウマチ、乾癬、鼻炎、結膜炎、虚血再灌流傷害、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、急性呼吸窮迫症候群、細菌感染に伴うショック、糖尿病、自己免疫疾患、移植臓器拒絶
- 5 反応、免疫抑制、癌転移、H I V感染および後天性免疫不全症候群から選択される疾患である請求の範囲 2 0 記載の予防および／または治療剤。

2 2. ケモカイン受容体の強結合部位に結合する化合物をスクリーニングする方法であって、

- 10 (a) ケモカイン受容体発現細胞またはその膜面分と被験化合物を接触させる工程、
- (b) 細胞または膜を 1 ～ 1 2 回洗浄する工程、および
- (c) 標識リガンドを加え、結合した標識リガンドの結合量を測定する工程を含むことを特徴とするスクリーニング方法。

15

2 3. ケモカイン受容体の強結合部位に結合する化合物をスクリーニングする方法であって、

- (a) ケモカイン受容体発現細胞またはその膜面分と被験化合物を接触させる工程、
- 20 (b) 前記 (a) 工程で調製された被験化合物と結合した細胞またはその膜面分を、標識された抗ケモカイン受容体抗体と接触させる工程、および
- (c) ケモカイン受容体発現細胞またはその膜面分に結合した標識された抗ケモカイン受容体抗体を測定する工程を含むことを特徴とするスクリーニング方法。

25

2 4. 請求の範囲 2 2 または 2 3 記載の方法により選択されたケモカイン受容体の強結合部位に結合する化合物を有効成分として含有するアレルギー

疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患の予防および／または治療剤。

25. 請求の範囲1記載のアゴニストまたはアンタゴニストの有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする、哺乳動物におけるCCR5介在性疾患の予防および／または治療方法。

26. 請求の範囲19記載のアンタゴニストまたはアゴニストの有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする、哺乳動物におけるケモカイン受容体介在性疾患の予防および／または治療方法。

27. 請求の範囲5、7、9、10または12記載の方法によって選択されたCCR5の強結合部位に結合する化合物を有効成分として含有するアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患および／または癌疾患の予防および／または治療方法。

28. CCR5介在性疾患の予防および／または治療剤を製造するための請求の範囲1記載のアゴニストおよび／またはアンタゴニストの使用。

29. ケモカイン受容体介在性疾患の予防および／または治療剤を製造するための請求の範囲19記載のアゴニストおよび／またはアンタゴニストの使用。

30. CCR5介在性疾患の予防および／または治療剤を製造するための請求の範囲5、7、9、10および／または12記載の方法によって、選択されたCCR5の強結合部位に結合する化合物の使用。

図 1

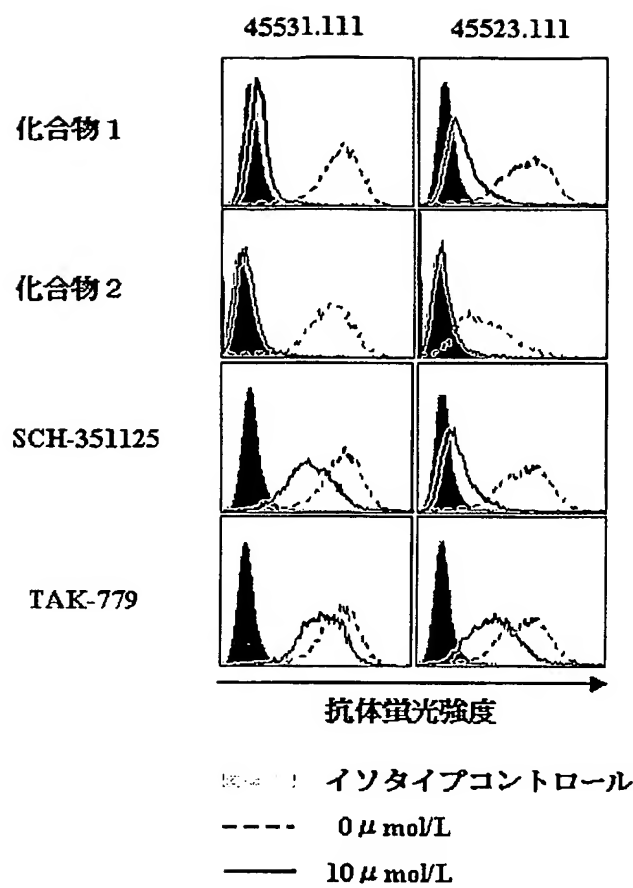
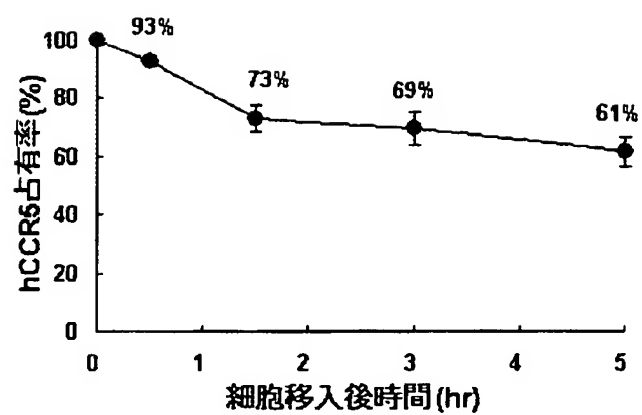


図 2



SEQUENCE LISTING

<110> ONO PHARMACEUTICAL CO., LTD.

<120> Antagonist and agonist which can be combined with strong binding site of chemokine receptor.

<130> ONF-4850PCT

<150> JP 2002-363013

<151> 2002-12-13

<160> 2

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hCCR5XbaI-F1(Forward primer)

<400> 1

agctagtcta gatccgttcc cctacaagaa actctcc

37

<210> 2

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hCCR5XbaI-R1(Reverse primer)

<400> 2

agctagtcta gactgcacaa ctctgactgg gtcacca

37

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record.**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)